# ใบรับรองวิทยานิพนธ์

## บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

**ปริญญา**

| เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ | เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ |
|---|---|
| **สาขา** | **ภาควิชา** |

**เรื่อง** การบำบัดไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการ Autotrophic Denitrification โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*

Nitrate Removal in Aquaculture with Autotrophic Denitrification Process by *Thiobacillus denitrificans*

**นามผู้วิจัย** นายตฤณ สุวรรณมานนท์

**ได้พิจารณาเห็นชอบโดย**

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก** .....

( รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี, Ph.D. )

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม** .....

( รองศาสตราจารย์นนทวิทย์ อารีย์ชน, Ph.D. )

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม** .....

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรืองวิชญ์ ยุ้นพันธ์, D.Tech.Sc. )

**หัวหน้าภาควิชา** .....

( ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D. )

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว**

.....

( รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr. )

**คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย**

**วันที่** ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

# การบำบัดไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการ Autotrophic Denitrification โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*

# Nitrate Removal in Aquaculture with Autotrophic Denitrification Process by *Thiobacillus denitrificans*


โดย

นายตฤณ สุวรรณมานนท์


เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)
พ.ศ. 2553


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตฤณ สุวรรณมานนท์ 2553: การบำบัดไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการ Autotrophic Denitrification โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี, Ph.D. 145 หน้า

การศึกษาการบำบัดไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการ Autotrophic Denitrification โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ประกอบด้วย 4 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ปริมาณไนเตรทเริ่มต้น 50 mg $NO_3^-$-N/L ซึ่งพบว่าอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน ที่ 1:1 สามารถลดปริมาณไนเตรทได้เร็วที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสามารถลดปริมาณไนเตรทได้หมดภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่า Optical density (OD) ตั้งแต่ 0.0-1.0 ต่อการลดไนเตรทพบว่าที่ค่า OD เท่ากับ 1.0 สามารถลดปริมาณไนเตรทเริ่มต้นที่ 50 mg $NO_3^-$-N/L ได้เร็วที่สุดและหมดภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทจะลดต่ำลงเมื่อค่า OD ลดลง การทดลองที่ 3 ศึกษาความเค็ม 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 ppt ต่อการบำบัดไนเตรทโดยแบคทีเรีย *T. denitrificans* พบว่าที่ค่าความเค็ม 0 ppt แบคทีเรีย *T. denitrificans* สามารถลดปริมาณไนเตรทเริ่มต้นที่ 50 mg $NO_3^-$-N/L ได้หมดภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยความสามารถของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการบำบัดไนเตรทจะลดลงเมื่อระดับความเค็มเพิ่มขึ้นและการทดลองที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม (คอลัมน์ไม่มีแบคทีเรีย *T. denitrificans*) และชุดทดลอง (คอลัมน์มีแบคทีเรีย *T. denitrificans*) พบว่าชุดควบคุมมีปริมาณไนเตรทและแอมโมเนียรวมมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนปริมาณไนไตรท์ของชุดทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นใน 3 วันแรกและลดต่ำลงซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง นอกจากนี้ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ทั้งของชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง และเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ย ความยาวรวมเฉลี่ย และอัตรารอดของปลาคาร์พ ในชุดทดลองมีค่ามากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Trin Suwanmanon 2010: Nitrate Removal in Aquaculture with Autotrophic Denitrification Process by *Thiobacillus denitrificans*. Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Wara Taparhudee, Ph.D. 145 pages.

The study on nitrate removal in aquaculture with autotrophic denitrification process by *Thiobacillus denitrificans* consisted of four experiments. The 1st experiment was to study efficiency of *T. denitrificans* on nitrate removal using different sulfur-limestone ratios i.e. 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 and 4:0. The initial nitrate concentration was 50 mg $NO_3^-$-N/L. The result showed that the ratio 1:1 could significantly reduce nitrate at the fastest rate within 96 hours compared to the others ($P<0.05$). The 2nd experiment was to study optical density (OD) of *T. denitrificans* from 0.0 to 1.0 on nitrate removal which it found that the OD of 1.0 could reduce 50 mg $NO_3^-$-N/L at the fastest rate within 96 hours. The efficiency of nitrate removal declined when the OD decreased. The 3rd experiment was to study effect of salinity levels i.e. 0, 10, 20 and 30 ppt on nitrate removal by *T. denitrificans*. The result indicated that the salinity level of 0 ppt could reduce 50 mg $NO_3^-$-N/L fastest rate within 96 hours which the efficiency of nitrate removal declined when the salinity level increased. The last experiment was to study efficiency of *T. denitrificans* on nitrate removal in fancy carp (*Cyprinus carpio*) aquaria in 30 days. The experiment was divided into two treatments: the control, column without *T. denitrificans*, and the treatment, column with *T. denitrificans*. It was found that the nitrate and ammonia concentrations in the control were significantly higher than the treatment ($P<0.05$) while the nitrite concentration of the treatment was increased in the first three days of the experiment after that it was decreased which was significantly different compared with the control. Additionally, the results showed no significant difference ($P>0.05$) of dissolved oxygen (DO) and pH levels between the treatments. After finished the experiment, average final weight, average final total length and survival rate of the treatment was significantly greater than the control ($P<0.05$).

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วราห์ เทพาหุดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร.นนทวิทย์ อารีย์ชน และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เรืองวิชญ์ ยุ้นพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในด้านการเรียน การค้นคว้าวิจัย และสนับสนุนทุนวิจัย ตลอดจนให้คำแนะนำ และการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ พร้อมทั้งขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ให้คำแนะนำและการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์เพิ่มเติมจนสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและอาจารย์จากภาควิชาอื่น ๆ พร้อมด้วยอาจารย์ภายนอกคณะทุก ๆ ท่าน ที่ได้ให้การอบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ประกอบอาชีพ และการดำรงชีวิตประจำวัน รวมทั้งสมาชิกห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นางสาวณัฏฐา นิธิกุลวรวงศ์ (พี่ปุ๋ม) ที่คอยแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด จนงานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การอบรมเลี้ยงดู และให้กำลังใจผู้วิจัยในทุกเรื่อง รวมถึงให้การสนับสนุนกำลังทรัพย์อย่างต่อเนื่องจนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ตฤณ สุวรรณมานนท์

เมษายน 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญ

หน้า


| | |
|---|---|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (3) |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ | (7) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 31 |
| อุปกรณ์ | 31 |
| วิธีการ | 33 |
| ผลและวิจารณ์ | 44 |
| ผล | 44 |
| วิจารณ์ | 93 |
| สรุปและข้อเสนอแนะ | 97 |
| สรุป | 97 |
| ข้อเสนอแนะ | 98 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 99 |
| ภาคผนวก | 105 |
| ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* | 106 |
| ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีและวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | 108 |
| ภาคผนวก ค ข้อมูลคุณภาพน้ำ | 117 |
| ภาคผนวก ง ภาพอุปกรณ์การทดลอง | 142 |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 145 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | กระบวนการลดไนเตรท (Nitrate Reduction) | 10 |
| 2 | การเปรียบเทียบความเป็นพิษของไนเตรท-ไนโตรเจน ($NO_3^-$-N) ต่อสัตว์น้ำ | 13 |
| 3 | การเปรียบเทียบความเป็นพิษของไนเตรท-ไนโตรเจน ($NO_3^-$-N) ต่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก | 17 |
| 4 | กระบวนการ Denitrification ในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยระบบน้ำหมุนเวียน | 20 |
| 5 | การเปรียบเทียบอัตราการบำบัดไนเตรทด้วยกระบวนการ Denitrification | 22 |

**ตารางผนวกที่**

| | | |
|---|---|---|
| ข1 | การเตรียมกราฟมาตรฐานแอมโมเนีย | 110 |
| ข2 | การเตรียมกราฟมาตรฐานไนไตรท์ | 112 |
| ค1 | ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน | 118 |
| ค2 | ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน | 126 |
| ค3 | ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน | 130 |
| ค4 | ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ | 135 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | วัฏจักรไนโตรเจนภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ | 4 |
| 2 | วัฏจักรซัลเฟอร์ในกระบวนการ Autotrophic denitrification bacteria | 9 |
| 3 | แบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* | 24 |
| 4 | ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ | 25 |
| 5 | ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ระดับต่าง ๆ | 26 |
| 6 | ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ความเข้มข้นไนไตรท์ระดับต่าง ๆ | 27 |
| 7 | ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ความเข้มข้นของ sodium chloride ระดับต่าง ๆ | 28 |
| 8 | ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ขนาดเม็ดกำมะถันแตกต่างกัน | 29 |
| 9 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 | 45 |
| 10 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 | 45 |
| 11 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 | 46 |
| 12 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 | 47 |
| 13 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 | 47 |
| 14 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 | 48 |
| 15 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 | 49 |
| 16 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูนแตกต่างกัน | 49 |
| 17 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 | 50 |
| 18 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 | 51 |
| 19 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 | 51 |
| 20 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 | 52 |
| 21 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 | 52 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญภาพ (ต่อ)


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 22 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 | 53 |
| 23 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 | 53 |
| 24 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน | 54 |
| 25 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 | 55 |
| 26 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 | 55 |
| 27 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 | 56 |
| 28 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 | 57 |
| 29 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 | 57 |
| 30 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 | 58 |
| 31 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 | 59 |
| 32 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน | 59 |
| 33 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 | 60 |
| 34 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 | 61 |
| 35 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 | 61 |
| 36 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 | 62 |
| 37 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 | 63 |
| 38 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 | 63 |
| 39 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 | 64 |
| 40 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน | 65 |
| 41 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน | 66 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญภาพ (ต่อ)


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 42 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน | 67 |
| 43 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน | 68 |
| 44 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน | 69 |
| 45 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 0 ppt | 70 |
| 46 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 10 ppt | 71 |
| 47 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 20 ppt | 71 |
| 48 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 30 ppt | 72 |
| 49 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน | 73 |
| 50 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 0 ppt | 73 |
| 51 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 10 ppt | 74 |
| 52 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 20 ppt | 75 |
| 53 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 30 ppt | 75 |
| 54 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน | 76 |
| 55 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 0 ppt | 77 |
| 56 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 10 ppt | 77 |
| 57 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 20 ppt | 78 |
| 58 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 30 ppt | 79 |
| 59 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน | 79 |
| 60 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 0 ppt | 80 |
| 61 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 10 ppt | 81 |
| 62 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 20 ppt | 81 |
| 63 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 30 ppt | 82 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญภาพ (ต่อ)


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 64 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน | 83 |
| 65 | ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 84 |
| 66 | ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท | 85 |
| 67 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 85 |
| 68 | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท | 86 |
| 69 | อุณหภูมิภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 87 |
| 70 | อุณหภูมิจากคอลัมน์บำบัดไนเตรท | 87 |
| 71 | ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 88 |
| 72 | ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 89 |
| 73 | ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ | 90 |
| 74 | ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลาคาร์พ | 91 |
| 75 | ค่าความยาวรวมเฉลี่ยของปลาคาร์พ | 91 |

**ภาพผนวกที่**

| | | |
|---|---|---|
| ข1 | ชุดทดสอบ Hydrogen Sulfide LR (481197-20) | 116 |
| ง1 | ลักษณะของกำมะถันก้อนและเม็ดกำมะถัน | 143 |
| ง2 | ลักษณะของเปลือกหอยนางรมและเปลือกหอยนางรมบด | 143 |
| ง3 | การจัดวางคอลัมน์บำบัดไนเตรทในการทดลองที่ 4 | 144 |
| ง4 | การจัดวางตู้ทดลองในการทดลองที่ 4 | 144 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | | |
|---|---|---|
| $C^{\circ}$ | = | องศาเซลเซียส |
| g | = | กรัม |
| L | = | ลิตร |
| mg/L | = | มิลลิกรัมต่อลิตร |
| mg $NO_2^-$-N/L | = | มิลลิกรัม ไนไตรท์-ไนโตรเจนต่อลิตร |
| mg $NO_3^-$-N/L | = | มิลลิกรัม ไนเตรท-ไนโตรเจนต่อลิตร |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# การบำบัดไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการ Autotrophic Denitrification โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*

# Nitrate Removal in Aquaculture with Autotrophic Denitrification Process by *Thiobacillus denitrificans*

## คำนำ

การเลี้ยงสัตว์น้ำระบบปิดโดยทั่วไปนั้นก่อให้เกิดการสะสมของสารอนินทรีย์-ไนโตรเจนในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งมีสาเหตุสำคัญจากเศษอาหาร และสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำ โดยสารอนินทรีย์-ไนโตรเจนเหล่านี้เมื่อเกิดการสะสมจนถึงระดับหนึ่งจะส่งผลต่อสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม

การเพิ่มขึ้นของไนเตรทในการเลี้ยงสัตว์น้ำระบบหมุนเวียนเกิดจากการเปลี่ยนแอมโมเนียม ($NH_4^+$) ผ่านกระบวนการ Nitrification ซึ่งมีรายงานปริมาณไนเตรทในระบบน้ำหมุนเวียน 400-500 mg $NO_3^-$-N/L (Otte and Rosenthal, 1979; Honda *et al.*, 1993) ซึ่งปริมาณไนเตรทในระบบน้ำหมุนเวียนมีความแตกต่างในแต่ละระบบและกระบวนการจัดการ โดยไนเตรทมีความเป็นพิษที่น้อยกว่าแอมโมเนีย และไนไตรท์ อย่างไรก็ตามปริมาณไนเตรทที่สูงขึ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น หมึก (Hyrayama, 1966), ปลาเทราต์ (Berka *et al.*, 1981), ปลาไหล (Kamstra and and van der Heul, 1998) และ กุ้ง (Muir *et al.*, 1991) โดย Camargo *et al.* (2005) ได้กำหนดปริมาณไนเตรทในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด และสัตว์น้ำเค็มควรมีค่าต่ำกว่า 2 และ 20 mg $NO_3$-N/L ตามลำ ดับ โดยมีการทดลองในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในระยะ Protozoea พบว่าปริมาณไนเตรท 0.226, 2.26 และ 22.6 mg $NO_3^-$-N/L พบอัตราการตายใน 40 ชั่วโมง ที่ 31-37%, 35-43% และ 37-58% ตามลำดับ นอกจากนี้ความเป็นพิษของไนเตรทยังขึ้นกับการเปลี่ยนรูปของไนเตรทเป็นไนไตรท์ โดยแบคทีเรียภายในระบบทางเดินอาหารของตัวสัตว์น้ำ ซึ่งไนไตรท์ที่ได้จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด และทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ส่งผลให้เกิดเมธีโมโกลบิน (Methemoglobin) ทำให้ความสามารถในการลำเลียงออกซิเจนลดลงจึงเป็นสาเหตุของโรคเลือดสีน้ำตาล (Brown blood disease)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดังนั้นการบำบัดไนเตรทในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงมีความสำคัญต่อสุขภาพสัตว์น้ำ ซึ่งได้มีการศึกษาเทคโนโลยีในการบำบัดไนเตรทอย่างกว้างขวาง ได้แก่ Ion exchange, Reverse osmosis, Electrodialysis และ Biological denitrification ซึ่งกระบวนการ Heterotrophic denitrification เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรท หากแต่ต้องการปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนที่เพียงพอ (Flere and Zhang, 1999; Zhang and Lampe, 1999) ดังนั้น จึงมีการศึกษากระบวนการ Autotrophic denitrification โดยใช้แบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ร่วมกับกำมะถัน (Sulfur) ซึ่งแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* สามารถใช้กำมะถันเป็นแหล่งพลังงาน และเปลี่ยนไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถันต่อหินปูนแตกต่างกัน

2. ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน

3. ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

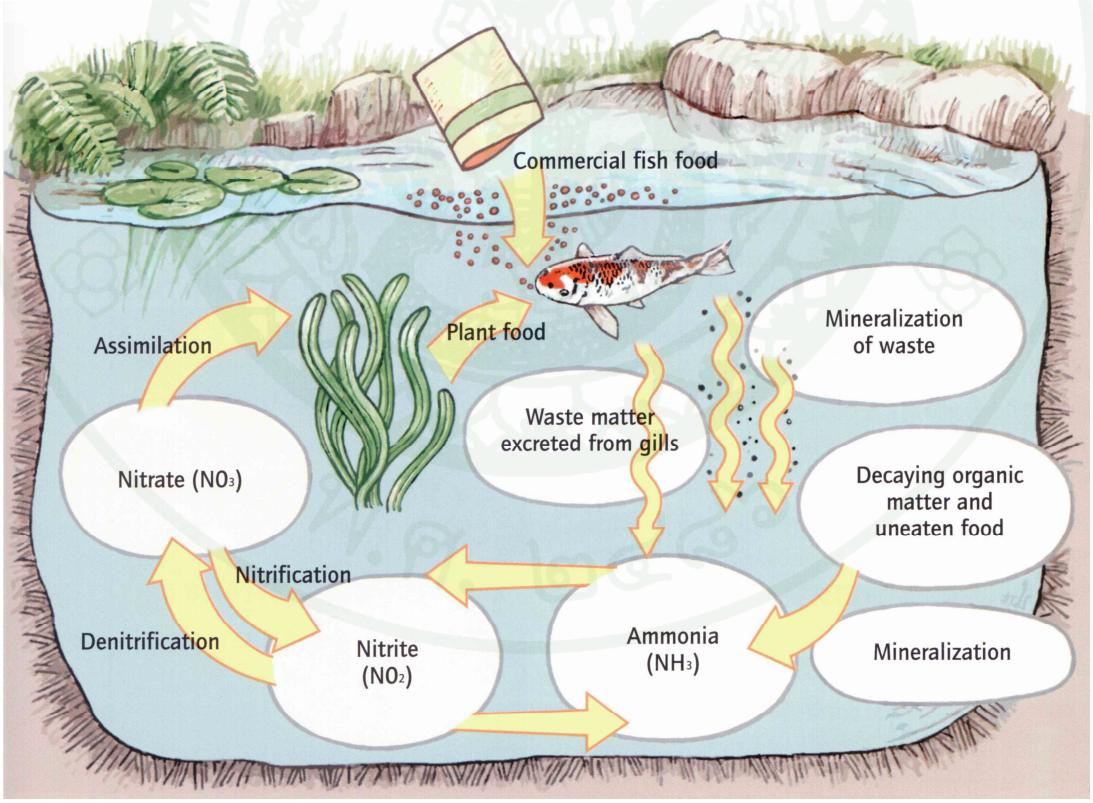
4. ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# การตรวจเอกสาร

## วัฏจักรไนโตรเจน

วัฏจักรไนโตรเจน ประกอบด้วยกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ซึ่งถูกควบคุมด้วยกิจกรรมทางชีววิทยา โดยมีความสัมพันธ์กับสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ภายในแหล่งน้ำ หรือ บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้น การหมุนเวียนของไนโตรเจนจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลากหลายกระบวนการ เช่น กระบวนการ Nitrogen fixation เป็นการตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศสู่แหล่งน้ำ ส่วนสารประกอบไนโตรเจนในรูปของสารอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนเป็นสารอนินทรีย์ในรูปของแอมโมเนียมผ่านกระบวนการ Ammonification หลังจากนั้นแอมโมเนียมจะเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ และไนเตรท ด้วยกระบวนการ Nitrification และเปลี่ยนจากไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจนด้วยกระบวนการ Denitrification ตามลำดับ ดังภาพที่ 1




**ภาพที่ 1** วัฏจักรไนโตรเจนภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

**ที่มา:** Kock and Watt (2006)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**1. สารประกอบไนโตรเจน**

สุวิมล (2545) กล่าวว่า สารประกอบไนโตรเจนภายในแหล่งน้ำมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบที่หลากหลายและตลอดเวลา ขึ้นกับกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมเป็นสำคัญ แต่โดยทั่วไปสารประกอบไนโตรเจนภายในแหล่งน้ำสามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้

1.1 สารประกอบอินทรีย์-ไนโตรเจน (Organic-nitrogen compounds)

คือ สารประกอบไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างพืชหรือโครงสร้างสัตว์ สิ่งขับถ่าย และสารจากการย่อยสลายสิ่งมีชีวิต ได้แก่ โปรตีน กรดอะมิโน กรดยูริกและยูเรียเป็นต้น

1.2 สารประกอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen compounds)

คือ สารประกอบไนโตรเจนที่อยู่รูปของแอมโมเนีย ($NH_3$) และแอมโมเนียม ($NH_4^+$) โดยเป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนจากสารอินทรีย์เป็นสารอนินทรีย์ ผ่านกระบวนการ Ammonification

1.3 สารประกอบไนไตรท์-ไนโตรเจน (Nitrite-nitrogen compounds)

คือ สารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของไนไตรท์ ($NO_2^-$) ซึ่งเกิดจากการ oxidation อย่างไม่สมบูรณ์ของสารประ กอบไนโตรเจนอื่น ๆ โดยเฉพาะจากกระบวนการ Nitrification

1.4 สารประกอบไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen compounds)

คือ สารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของไนเตรท ($NO_3^-$) ซึ่งเกิดการ oxidation อย่างสมบูรณ์ของสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ ในกระบวนการ Nitrification

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**2. กระบวนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจน**

2.1 กระบวนการ Ammonification

กระบวนการเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์-ไนโตรเจน ให้อยู่ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์-ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียม และแอมโมเนีย โดย สุบัณฑิต (2548) กล่าวว่า กระบวนการ Ammonification เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นโปรตีน และกรดอะมิโน ตามลำดับ ผ่านกระบวนการ Proteolysis แล้วกรดอะมิโนจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมด้วยกระบวนการ Deamination ดังสมการที่ 1 แต่แอมโมเนียมที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนรูประหว่างแอมโมเนียม และแอมโมเนีย โดยขึ้นอยู่กับสภาวะความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของแหล่งน้ำ (ธงชัย, 2545) ดังสมการที่ 2

โปรตีน ⟶ กรดอะมิโน ⟶ แอมโมเนียม (1)

$$NH_4^+ \longrightarrow NH_3 + H^+ \qquad (2)$$

2.2 กระบวนการ Nitrification

สุบัณฑิต (2548) กล่าวว่า กระบวนการ Nitrification เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียมเป็นไนไตรท์ และไนเตรท ตามลำดับ โดยอาศัยแบคทีเรียในกลุ่ม Nitrifying bacteria ซึ่งประกอบ ด้วย 2 กระบวนการ ดังนี้

2.2.1 กระบวนการเปลี่ยนแอมโมเนียม หรือ ก๊าซแอมโมเนียมให้เป็นไนไตรท์ โดยอาศัยกระบวนการ Nitrosification หรือ Ammonium oxidation ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสำคัญ ได้แก่ *Nitrosococcus, Nitrosocystis, Nitrosolobus* และ *Nitrosomonas* (Gerardi, 2002) ดังสมการที่ 3

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \xrightarrow{Nitrosomonas} NO_2^- + 2H^+ + H_2O + \text{พลังงาน} \qquad (3)$$

2.2.2 กระบวนการเปลี่ยนไนไตรท์ให้เป็นไนเตรทโดยกระบวนการ Nitrite oxidation ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสำคัญ ได้แก่ *Nitrobacter, Nitrococcus* และ *Nitrospira* (Gerardi, 2002) ดังสมการที่ 4

$$NO_2^- + 0.5O_2 \xrightarrow{Nitrobacter} NO_3^- + \text{พลังงาน} \qquad (4)$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยสามารถแสดงสมการรวมของการเกิดกระบวนการ Nitrification ทั้งจากกระบวนการ Nitrosification และ Nitrite oxidation ดังสมการที่ 5

$$NH_4^+ + 2O_2 \xrightarrow{\text{Nitrifying bacteria}} NO_3^- + 2H^+ + H_2O \qquad (5)$$

2.3 กระบวนการ Denitrification

สุบัณฑิต (2548) กล่าวว่า กระบวนการ Denitrification เป็นกระบวนการลดไนโตรเจนในรูปของสารประกอบ เช่น ไนเตรท และไนไตรท์ ในสภาวะปราศจากออกซิเจนให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจน โดยอาศัยแบคทีเรียในกลุ่ม Denitrifying bacteria ซึ่งประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

2.3.1 Nitrate reduction คือ การใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจนในการหายใจ หรือ ที่เรียกว่า nitrate respiration โดยการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ด้วยเอนไซม์ Nitrate reductase ดังสมการที่ 6

$$NO_3^- \xrightarrow{\text{Nitrate reductase}} NO_2^- \qquad (6)$$

2.3.2 Nitrite reduction คือ การใช้ไนไตรท์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในการหายใจ หรือ ที่เรียกว่า nitrite respiration โดยการเปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนตริคออกไซด์ด้วยเอนไซม์ Nitrite reductase ดังสมการที่ 7

$$NO_2^- \xrightarrow{\text{Nitrite reductase}} NO \qquad (7)$$

2.3.3 Nitricoxide reduction คือ การใช้ไนตริคออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในการหายใจ โดยการเปลี่ยนไนตริคออกไซด์เป็นไนตรัสออกไซด์ด้วยเอนไซม์ Nitricoxide reductase ดังสมการที่ 8

$$NO \xrightarrow{\text{Nitricoxide reductase}} N_2O \qquad (8)$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3.4 Nitrousoxide reduction คือ การใช้ไนตรัสออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เพื่อใช้ในกระบวนการหายใจ โดยเปลี่ยนไนตรัสออกไซด์เป็นก๊าซไนโตรเจนด้วยเอนไซม์ Nitrousoxide reductase ดังสมการที่ 9

$$N_2O \xrightarrow{\text{Nitrousoxide reductase}} N_2 \qquad (9)$$

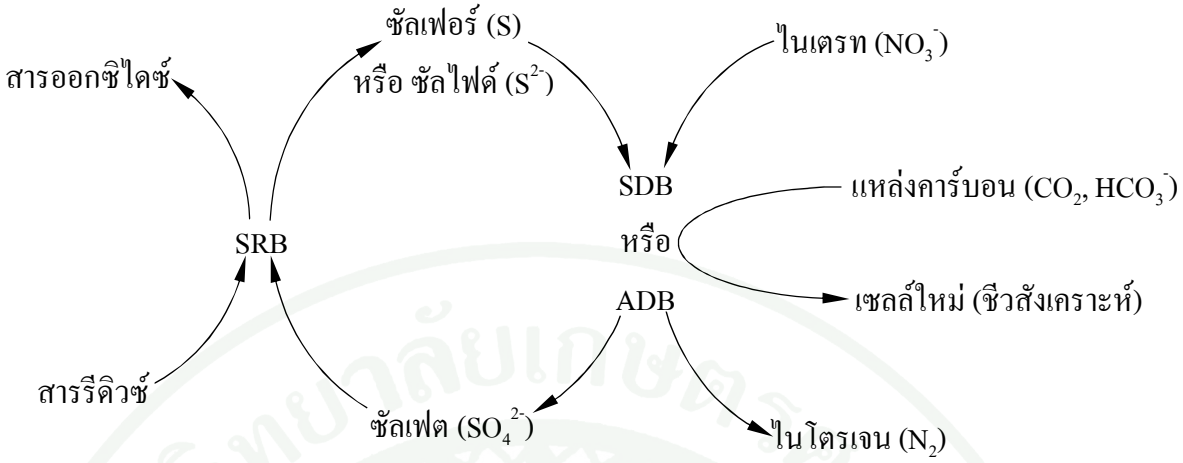
ดังนั้น แบคทีเรียในกระบวนการ Denitrification จึงอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobic ที่ต้องการออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจ แต่ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนจะใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจแทน โดย Denitrifying bacteria สามารถใช้ไนไตรท์ ไนตริคออกไซด์ และไนตรัสออกไซด์ เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเหมือนกับไนเตรท (ยนต์, ม.ป.ป.) นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งกลุ่ม Denitrifying bacteria ตามความสามารถในการสร้างอาหารออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. Heterotrophic denitrification bacteria คือ แบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง แต่ต้องอาศัยสารอินทรีย์ หรือ ซากของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เป็นแหล่งอาหาร และพลังงาน ได้แก่ ethanol, glucose และ methanol เพื่อใช้ในกระบวนการหายใจและการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญในการให้อิเล็กตรอน และเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอน สุวิมล (2545) ดังสมการที่ 10

$$\text{Glucose} + 4.8NO_3^- + 4.8H^+ \longrightarrow 6CO_2 + 2.4N_2 + 8.4H_2O + 636\ \text{kcal} \qquad (10)$$

2. Autotrophic denitrification bacteria คือ แบคทีเรียที่สามารถสร้างอาหารได้เอง โดยใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งอาหาร และแหล่งพลังงาน ซึ่งใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$) และแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นแหล่งคาร์บอน (สุวิมล, 2545) เช่น แบคทีเรีย *Thioballcillus denitrificans* ที่ใช้ซัลเฟอร์ (S) เป็นตัวให้อิเล็กตรอน และใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังภาพที่ 2 ซึ่งแบคทีเรียที่เปลี่ยนซัลเฟอร์เป็นซัลเฟต ($SO_4^{2-}$) และเปลี่ยนไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจน เรียกว่า Sulfur denitrifying bacteria (SDB) หรือ Autotrophic denitrifying bacteria (ADB) (ธงชัย, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 2** วัฏจักรซัลเฟอร์ในกระบวนการ Autotrophic denitrification bacteria

**ที่มา:** ธงชัย (2545)

แบคทีเรียที่มีความสำคัญในกระบวนการ Denitrification ได้แก่ *Acetobacter, Achromobacter, Acinetobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Arthrobacter, Axotobacter, Bacillus, Chromobacterium, Corynebacterium, Denitrobacillus, Enterobacter, Escherichia, Flavobacterium, Halobacterium, Hyphomicrobium, Kingella, Methanonas, Moraxella, Neisseria, Paracoccus, Propionicbacterium, Pseudomonas, Rhizobium, Rhodopseudomonas, Spirillum, Thiobacillus* และ *Xanthomonas* (Gerardi, 2002)

นอกจากกระบวนการ Denitrification แล้วยังมีกระบวนการลดไนเตรทอีก 2 กระบวนการ ดังนี้

2.4 Assimilatory nitrate reduction

กระบวนการเปลี่ยนไนเตรทเป็นแอมโมเนียม ซึ่งสามารถพบในเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย โดยแอมโมเนียมจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน แต่เนื่องจากการเปลี่ยนไนเตรทเป็นแอมโมเนียมจะต้องอาศัยพลังงานที่มากกว่าการใช้แอมโมเนียมโดยตรง ดังนั้นกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อมีไนเตรทเป็นสารประกอบไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว (อรอนงค์, 2550; วีรานุช, 2551)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5 Dissimilatory nitrate reduction to ammonia

กระบวนการเปลี่ยนไนเตรทเป็นแอมโมเนียม ภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน ซึ่งใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแทนออกซิเจนในกระบวนการหายใจของจุลินทรีย์ โดยการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ และแอมโมเนียม ตามลำดับ (วีรานุช, 2551)

ดังนั้นกระบวนการ Assimilatory nitrate reduction และ Dissimilatory nitrate reduction to ammonia จึงเป็นกระบวนการลดไนเตรทเหมือนกับกระบวนการ Denitrification แต่มีความแตกต่างกันที่ผลผลิตสุดท้ายของแต่ละกระบวนการ ซึ่งกระบวนการ Denitrification เป็นการเปลี่ยนไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจน ซึ่งแตกต่างจากกระบวนการ Assimilatory nitrate reduction และ Dissimilatory nitrate reduction to ammonia ที่เปลี่ยนไนเตรทเป็นแอมโมเนียม ตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** กระบวนการลดไนเตรท (Nitrate Reduction)

| Process | Regulator (s) | Organisms |
|---|---|---|
| **Assimilatory nitrate reduction** | | |
| ($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$) | $NH_4^+$ | Plants, fungi, algae, bacteria |
| **Dissimilatory nitrate reduction** | | |
| Dissimilatory nitrate reduction to ammonia ($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$) | $O_2$, C/N | Anaerobic and facultative anaerobic bacteria |
| Denitrification ($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$) | $O_2$, C/N | Facultative anaerobic bacteria |

**ที่มา:** Tiedje (1990) อ้างโดย van Rijn *et al.* (2006)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## ผลของไนเตรทต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

### 1. คุณภาพน้ำ

ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) คือ สภาวะที่แหล่งน้ำเกิดการสะสมของสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช และพืชน้ำ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จึงส่งผลให้แพลงก์ตอนพืช และพืชน้ำเกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสัตว์น้ำและแหล่งน้ำ โดยเฉพาะช่วงเวลาที่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ทำให้ต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจ และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา จึงส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ภายในแหล่งน้ำ นอกจากนี้เมื่อปริมาณสารอาหารลดลงหรือหมดลง จะเกิดการตายของแพลงก์ตอนพืช และพืชน้ำ และเกิดการย่อยสลายกลายเป็นแอมโมเนียกลับสู่แหล่งน้ำ

### 2. สัตว์น้ำ

ความเป็นพิษของไนเตรทต่อสัตว์น้ำนอกจากความเป็นพิษโดยตรงแล้ว ไนเตรทยังมีความเป็นพิษทางอ้อม ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ โดยแบคทีเรียภายในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ เช่น *Nitrobacter* โดยการใช้ NADH เป็นตัวให้อิเล็กตรอนของกระบวนการ Phosphorylation เพื่อเปลี่ยน ADP ให้เป็น ATP ดังสมการที่ 11 (deSaint-Blanquat, 1980 อ้างโดย Environment Canada, 2003)

$$NO_3^- + NADH_2 + 2ADP + 2Pi \longrightarrow NO_2^- + NAD^+ + 2ATP + H_2O \qquad (11)$$

จากสมการที่ 11 จะได้ไนไตรท์เป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการ ซึ่งไนไตรท์ที่ได้จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด และทำปฏิกิริยากับเฟอรัสอิออน ($Fe^{2+}$) ซึ่งเป็นองค์ประกอบภายในที่สำคัญของ Oxyhaemoglobin ($HbO_2$) และเปลี่ยนเป็นเฟอริกอิออน ($Fe^{3+}$) ส่งผลให้เกิด Methaemoglobin ($Hb^+$) ดังสมการที่ 12 (Stormer *et al.*, 1996 อ้างโดย Environment Canada, 2003)

$$4HbO_2 + 4NO_2^- + 4H^+ \longrightarrow 4Hb^+ + 4NO_3^- + O_2 + 2H_2O \qquad (12)$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เนื่องจาก Methaemoglobin ไม่สามารถนำพาออกซิเจนไปยังเซลล์ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย จึงเป็นสาเหตุของสภาวะ Hypoxia (Environment Canada, 2003) เมื่อระดับ Methaemoglobin เพิ่มสูงขึ้น หรือ โรคเลือดสีน้ำตาล (Brown blood disease) (สุบัณฑิต และ วีระพงศ์, 2552) โดยกระบวนการเกิด Methaemoglobin นั้นสามารถเกิดได้ทั้งกับ Hemoglobin และ Hemocyanin ซึ่งความเป็นพิษของไนเตรทต่อสัตว์น้ำจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อค่าความเข้มข้นของไนเตรทและระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่ความเป็นพิษของไนเตรทจะลดต่ำลงตามขนาดของสัตว์น้ำและระดับความเค็มของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้ความเป็นพิษของไนเตรทในสัตว์น้ำจืดมากกว่าในสัตว์น้ำเค็ม อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของไนเตรทในสัตว์กลุ่ม Invertebrates พบว่าสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อนบางชนิดจะมีความเป็นพิษเทียบเท่ากับสัตว์น้ำจืด นอกจากนี้ความเป็นพิษของไนเตรทในสัตว์น้ำยังขึ้นอยู่กับการปรับตัวของสัตว์น้ำต่อสภาพแวดล้อม (Camargo *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gutierrez-Wing and Malone (2006) กล่าวว่า ค่าความเป็นพิษของไนเตรทต่อสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วงกว้างขึ้นกับชนิด และการพัฒนาการของสัตว์น้ำในแต่ละระยะ นอกจากนี้ไนเตรทยังมีผลต่อค่าออสโมติก (Osmoregulation) ของตัวสัตว์น้ำ (Lawson, 1995 อ้างโดย Zweig *et al.*, 1999) และมีผลยับยั้งการวางไข่ของปลาสวยงามน้ำจืดบางชนิด (Van Rijn, 1996)

ดังนั้น ค่าความเข้มข้นของไนเตรทต่อสัตว์น้ำจึงมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดย อำไพเทพิน (2543); สุวิมล (2545); Gutierrez-Wing (2006) กล่าวว่า ค่าความเข้มข้นของไนเตรทที่ปลอดภัยในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไม่ควรมากกว่า 50 mg $NO_3^-$-N/L ซึ่งแตกต่างจาก Hart and O' Sullivan (1993) อ้างโดย สุวิมล (2545) ที่กำหนดค่าความเข้มข้นของไนเตรทไม่ควรมากกว่า 25 mg $NO_3^-$-N/L ส่วน Meade (1989) ได้กำหนดค่าความเข้มข้นของไนเตรทสำหรับการเลี้ยงปลาไม่ควรมากกว่า 3 mg $NO_3^-$-N/L และจากรายงานของ Camargo *et al.* (2005) ได้แนะนำค่าความเข้มข้นของไนเตรทสำหรับสัตว์น้ำจืดและสัตว์น้ำเค็มไม่ควรมากกว่า 2 และ 20 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ

โดยความเป็นพิษของไนเตรทต่อสัตว์น้ำสามารถแสดงได้ด้วยค่า Lethal Concentration 50 ($LC_{50}$) ที่ระดับต่าง ๆ โดยสามารถแบ่งสัตว์น้ำออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ สัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง สัตว์น้ำที่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ดังตารางที่ 2-3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 2** การเปรียบเทียบความเป็นพิษของไนเตรท-ไนโตรเจน ($NO_3^-$-N) ต่อสัตว์น้ำ

| Species | Developmental stage | Aquatic medium | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|---|
| **Invertebrates** | | | | |
| *Crassostrea virginica* | Juveniles | Seawater | 3,794 (96 h $LC_{50}$) [a] | Epifano and Srna (1975) |
| *Penaeus monodon* | Protozoea (I stage) | Seawater (32‰) | 0.226 (31-37% mortality 40 h) [a] | Muir *et al.* (1991) |
| | Protozoea (I stage) | Seawater (32‰) | 2.26 (35-34% mortality 40 h) [a] | Muir *et al.* (1991) |
| | Protozoea (I stage) | Seawater (32‰) | 22.6 (37-58% mortality 40 h) [a] | Muir *et al.* (1991) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (15‰) | 2,876 (48 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (15‰) | 1,723 (72 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (15‰) | 1,449 (96 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (25‰) | 3,894 (48 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (25‰) | 2,506 (72 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (25‰) | 1,575 (96 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (35‰) | 4,970 (48 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (35‰) | 3,525 (72 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |
| | Juveniles (22-35 mm) | Seawater (35‰) | 2,316 (96 h $LC_{50}$) [a] | Tsai and Chen (2002) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 2** (ต่อ)

| Species | Developmental stage | Aquatic medium | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|---|
| **Vertebrates** | | | | |
| *Ictalurus punctatus* | Fingerlings (50-76 mm) | Freshwater (22 $^0$C) | 1,355 (96 h $LC_{50}$)[a] | Colt and Tchobanoglous (1976) |
| | Fingerlings (50-76 mm) | Freshwater (26 $^0$C) | 1,423 (96 h $LC_{50}$)[a] | Colt and Tchobanoglous (1976) |
| | Fingerlings (50-76 mm) | Freshwater (30 $^0$C) | 1,400 (96 h $LC_{50}$)[a] | Colt and Tchobanoglous (1976) |
| *Oncorhynchus mykiss* | Fingerlings | Freshwater | 1,355 (96 h $LC_{50}$)[a] | Westin (1974) |
| *Oncorhynchus tshawytscha* | Fingerlings | Freshwater | 1,310 (96 h $LC_{50}$)[a] | Westin (1974) |
| *Poecilia reticulates* | Fry | Freshwater | 267 (24 h $LC_{50}$)[b] | Rubin and Elmaraghy (1977) |
| | Fry | Freshwater | 219 (48 h $LC_{50}$)[b] | Rubin and Elmaraghy (1977) |
| | Fry | Freshwater | 199 (72 h $LC_{50}$)[b] | Rubin and Elmaraghy (1977) |
| | Fry | Freshwater | 191 (96 h $LC_{50}$)[b] | Rubin and Elmaraghy (1977) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 2** (ต่อ)

| Species | Developmental stage | Aquatic medium | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|---|
| *Micropterus treculi* | Fingerlings | Freshwater | 1,261 (96 h $LC_{50}$)[a] | Tomasso and Carmichael (1986) |
| *Pimephales promelas* | Larvae (<8 d) | Freshwater | 1,010-1,607 (96 h $LC_{50}$)[a] | Scott and Crunkilton (2000) |
| *Catla catla* | Fry (static system) | Freshwater | 1,565 (24 h $LC_{50}$)[a] | Tilak *et al.* (2002) |
| | Fry (flow through system) | Freshwater | 1,484 (24 h $LC_{50}$)[a] | Tilak *et al.* (2002) |
| *Lithognathus mormyrus* | Fingerlings | Seawater (34‰) | 3,450 (24 h $LC_{50}$)[a] | Brownell (1980) |
| *Diplodus saegus* | Fingerlings | Seawater (34‰) | 3,560 (24 h $LC_{50}$)[a] | Brownell (1980) |
| *Heteromycteris capensis* | Fingerlings | Seawater (34‰) | 5,050 (24 h $LC_{50}$)[a] | Brownell (1980) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 2** (ต่อ)

| Species | Developmental stage | Aquatic medium | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|---|
| *Centropristis striata* | Fingerlings (106-168 mm) | Seawater (32‰) | 2,400 (96 h $LC_{50}$)[a] | Pierce *et al.* (1993) |
| *Trachinotus carolinus* | Fingerlings (69-115 mm) | Seawater (32‰) | 1,000 (96 h $LC_{50}$)[a] | Pierce *et al.* (1993) |
| *Monocanthus hispidus* | Fingerlings (39-55 mm) | Seawater (32‰) | 573 (96 h $LC_{50}$)[a] | Pierce *et al.* (1993) |

**หมายเหตุ** [a] การทดลองใช้ Sodium nitrate ($NaNO_3$) เป็นแหล่งของไนเตรท

[b] การทดลองใช้ Potassium nitrate ($KNO_3$) เป็นแหล่งของไนเตรท

**ที่มา:** ดัดแปลงจาก Camargo *et al.* (2005)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 3** การเปรียบเทียบความเป็นพิษของไนเตรท-ไนโตรเจน ($NO_3^-$-N) ต่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

| Species | Developmental stage | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|
| *Bufo bufo* | Tadpoles | 384.8 (96 h $LC_{50}$)[c] | Xu and Oldham (1997) |
| | Tadpoles | 369.6 (168 h $LC_{50}$)[c] | Xu and Oldham (1997) |
| *Bufo americanus* | Tadpoles (from Ojibway) | 13.6 (96 h $LC_{50}$)[c] | Hecnar (1995) |
| | Tadpoles (from Harrow) | 39.3 (96 h $LC_{50}$)[c] | Hecnar (1995) |
| *Pseudacris triseriata* | Tadpoles | 17 (96 h $LC_{50}$)[c] | Hecnar (1995) |
| *Rana pipiens* | Tadpoles | 22.6 (96 h $LC_{50}$)[c] | Hecnar (1995) |
| *Rana clamitans* | Tadpoles | 32.4 (96 h $LC_{50}$)[c] | Hecnar (1995) |
| *Rana pretiosa* | Newly hatched larvae | 16.45 (15 d $LC_{50}$)[b] | Marco *et al.* (1999) |
| *Ambystoma gracile* | Newly hatched larvae | 23.39 (15 d $LC_{50}$)[b] | Marco *et al.* (1999) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 3** (ต่อ)

| Species | Developmental stage | Toxicological parameter (mg $NO_3^-$-N/L) | References |
|---|---|---|---|
| *Pseudacris regilla* | Embryos | 643 (96 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| | Embryos | 578 (240 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| | Tadpoles | 1,749.8 (96 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| | Tadpoles | 266.2 (240 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| *Xenopus laevis* | Embryos | 438.4 (120 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| | Tadpoles | 1,655.8 (96 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| | Tadpoles | 1,236.2 (240 h $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |
| *Rana aurora* | Embryos | 636.3 (16 d $LC_{50}$)[a] | Schuytema and Nebeker (1999) |

**หมายเหตุ** [a] การทดลองใช้ Sodium nitrate ($NaNO_3$) เป็นแหล่งของไนเตรท

[b] การทดลองใช้ Potassium nitrate ($KNO_3$) เป็นแหล่งของไนเตรท

[c] การทดลองใช้ Aammonium nitrate ($NH_4NO_3$) เป็นแหล่งของไนเตรท

**ที่มา:** ดัดแปลงจาก Camargo *et al.* (2005)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**กระบวนการ Denitrification กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**

กระบวนการ Denitrification เป็นกระบวนการที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำระบบปิด เนื่องจากเป็นกระบวนการที่สามารถบำบัดสารประกอบไนโตรเจนออกจากระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งการศึกษากระบวนการ Denitrification ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ผ่านมาได้มีการทดลองที่หลากหลายทั้งชนิดของสัตว์น้ำ และวิธีการในการบำบัด โดยแต่ละวิธีการบำบัดนั้นต่างก็มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันออกไป ดังนี้

ศิริวัฒน์ (2544) ศึกษาการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงปลาน้ำจืดระบบปิดโดยกระบวนการ Nitrification และ Denitrification โดยการบำบัดไนเตรทในระบบน้ำหมุนเวียนด้วยแผ่นโพลิเอสเตอร์ (polyester) ที่ผ่านการตรึงแบคทีเรียในกลุ่ม Denitrifying bacteria ด้วยอัตราการไหลของน้ำจากตู้เลี้ยงปลาเข้าสู่ระบบบำบัดที่ 12 ลิตรต่อวัน และระยะเวลากักเก็บน้ำประมาณ 0.4 วันโดยใช้ glucoseเป็นแหล่งคาร์บอน และพบว่าสามารถบำบัดไนเตรทได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์

วิฐู (2546) ได้ศึกษาการกำจัดไนเตรทในตู้เลี้ยงปลาโดยกระบวนการ Denitrification ซึ่งได้ทดลองบำบัดไนเตรทภายในตู้เลี้ยงปลาทอง ด้วยเส้นใยอะคริลิกที่ผ่านการตรึงด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Denitrifying bacteria ที่อัตราหมุนเวียนน้ำ 12, 24, 48, 60, 72 และ 90 ลิตรต่อวัน และมีระยะเวลากักเก็บน้ำ 0.417, 0.208, 0.104, 0.083, 0.069 และ 0.056 วัน ตามลำดับ พบว่าค่าความเข้มข้นไนเตรทที่เหลืออยู่ในตู้ปลาประมาณ 1.34±0.17, 1.29±0.08, 0.93±0.08, 0.29±0.06, 0.21±0.02 และ 0.24±0.13 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ

Abouthboul *et al.* (1995) ได้ทดลองเลี้ยงปลาในระบบบำบัดชีวภาพ พบว่าสามารถควบคุมค่าความเข้มข้นของไนเตรทให้น้อยกว่า 20 mg $NO_3^-$-N/L ในชุดทดลอง และค่าความเข้มข้นไนเตรทเพิ่มจาก 20 mg $NO_3^-$-N/L เป็น 60 mg $NO_3^-$-N/L ภายใน 15 วัน ในชุดควบคุม ซึ่งส่งผลกระทบต่อค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย และไนไตรท์

นอกจากนี้ยังมีวิธีในการบำบัดไนเตรทอีกหลากหลายวิธี โดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทที่แตกต่างกันในแต่ละวิธี ดังตารางที่ 4-5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 4** กระบวนการ Denitrification ในการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยระบบน้ำหมุนเวียน

| Denitrifying reactor | Organism(s) culture | Carbon/electron donor | Reference |
|---|---|---|---|
| **Freshwater systems** | | | |
| Activated sludge | Carp | Endogenous | Meske (1976) |
| Activated sludge | Tilapia, eel | Glucose/methanol | Otte and Rosenthal (1979) |
| Activated sludge | Trout | Hydrolyzed cron starch | Kaiser and Schmitz (1988) |
| Digestion basin and fluidized bed reactor | Tilapia | Endogenous | van Rijn and Rivera (1990) |
| | | | Arbiv and van Rijn (1995) |
| | | | Shnel *et al.* (2002) |
| Activated sludge | Eel | Endogenous | Knosche (1994) |
| Packed bed reactor | ND | Methanol | Abeysinghe *et al.* (1996) |
| Packed bed reactor | ND | Endogenous | Phillips and Love (1998) |
| Polymers | Ornamental carp | Endogenous | Nagadomi *et al.* (1999) |
| Polymers | Ornamental fish | Biodegredable polymers | Boley *et al.* (2000) |
| Packed bed reactor | Eel | Methanol | Suzuki *et al.* (2003) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 4** (ต่อ)

| Denitrifying reactor | Organism(s) culture | Carbon/electron donor | Reference |
|---|---|---|---|
| **Marine systems** | | | |
| Packed bed reactor | Atlantic and Chinook salmon | Methanol | Balderston and Sieburth (1976) |
| Packed bed reactor | Japanese Flounder | Glucose | Honda *et al.* (1993) |
| Packed bed reactor | Squids | Methanol | Whitson *et al.* (1993) |
| Packed bed reactor | ND | Ethanol | Sauthier *et al.* (1998) |
| Fluidized bed reactor | Ornamental fish | Methanol | Grguric and Coston (1998) |
| Polymers | ND | Glucose | Park *et al.* (2001) |
| Packed bed reactor | Ornamental fish | Methanol | Grguric *et al.* (2000) |
| Packed bed reactor | Shrimp | Ethanol/methanol | Menasveta *et al.* (2001) |
| Polymers | Ornamental fish | Starch | Tal *et al.* (2003) |
| Digestion basin and fluidized bed reactor | Gilthead seabream | Endogenous | Gelfand *et al.* (2003) |
| Moving bed bioreactor | Gilthead seabream | Starch | Morrison *et al.* (2004) |

**หมายเหตุ** ND ไม่มีข้อมูล

**ที่มา:** ดัดแปลงจาก van Rijn *et al.* (2006)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 5** การเปรียบเทียบอัตราการบำบัดไนเตรทด้วยกระบวนการ Denitrification

| Denitrifying | Medium | Carbon soure | Nitrate removal rate (mg $NO_3^-$-N /L/h) | Reference |
|---|---|---|---|---|
| **Freshwater systems** | | | | |
| Fluidized bed | Sand | Endogenous | 35.8 | Arbiv and van Rijn (1995) |
| Packed bed | Biodegradable polymers | PHB $(C_4H_6O_2)_n$ | 7-41 | Boley *et al.* (2000) |
| Packed bed | Biodegradable polymers | PCL $(C_6H_{10}O_2)_n$ | 21-166 | Boley *et al.* (2000) |
| Packed bed | Biodegradable polymers | Bionolle $(C_6H_8O_4)_n$ | 1.5-77 | Boley *et al.* (2000) |
| Packed bed | Polyethylene | Methanol | 1.8[a] | Suzuki *et al.* (2003) |
| Digestion basin | Sludge | Endogenous | 5.9 | Shnel *et al.* (2002) |
| Fluidized bed | Sand | Endogenous | 55.4 | Shnel *et al.* (2002) |
| Packed bed | Freeze-dried alginate beads | Starch | 26.0 | Tal *et al.* (2003) |
| Digestion basin | Sludge | Endogenous | 1.5 | Gelfand *et al.* (2003) |
| Fluidized bed | Sand | Endogenous | 43.3 | Gelfand *et al.* (2003) |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 5** (ต่อ)

| Denitrifying | Medium | Carbon soure | Nitrate removal rate (mg $NO_3^-$-N /L/h) | Reference |
|---|---|---|---|---|
| **Marine systems** | | | | |
| Packed bed | Plastic medium | Glucose | 1.7 | Honda *et al.* (1993) |
| Packed bed | Brick granules | Ethanol | 100 | Sauthier *et al.* (1998) |
| Packed bed | Porous medium | Methanol | 7.3-8.4[a] | Grguric *et al.* (2000a, b) |
| Packed bed | Polyvinyl alcohol | Glucose | 1.4 | Park *et al.* (2001) |
| Packed bed | Plastic balls/crushed oyster shells | Ethanol/methanol | 6.6[a] | Menasveta *et al.* (2001) |
| Packed bed | Freeze-dried alginate beads | Starch | 2.6 | Tal *et al.* (2003) |
| Digestion basin | Sludge | Endogenous | 2.5 | Gelfand *et al.* (2003) |
| Fluidized bed | Sand | Endogenous | 72.6 | Gelfand *et al.* (2003) |
| Moving bed reactor | Plastic medium | Endogenous | 24.0 | Tal and Schreier (2004) |

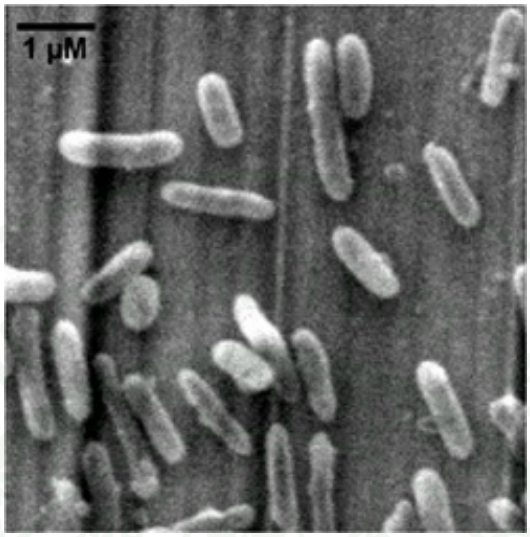
**หมายเหตุ** [a] Extrapolated (rates were not provided by authors)

**ที่มา:** ดัดแปลงจาก van Rijn *et al.* (2006)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**คุณสมบัติของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* และปัจจัยต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรท**




**ภาพที่ 3** แบคทีเรีย *Thiobacillus* denitrificans

**ที่มา:** Beller *et al.* (2006)

*T. denitrificans* จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่งสั้น (short rod) มีความกว้าง 0.5 ไมโครเมตร และความยาวอยู่ในช่วง 1.0-3.0 ไมโครเมตร โคโลนีมีลักษณะใส และขาวขุ่นเมื่ออายุมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตบนอาหาร Thiosulfate nitrate, Thiosulfate, Tetrathionate และ Sulfide โดยใช้ nitrate, nitrite และ nitrous oxidizes ในการเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจ และสามารถ oxidize สารประกอบ sulfur, sulfide, thiosulfate, tetrathionatenc และ sulfite แต่ยกเว้นสารประกอบ thiocyanate ซึ่งแบคทีเรีย *T. denitrificans* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Facultative anaerobic bacteria ที่สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และปราศจากออกซิเจน จึงสามารถใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจเพื่อผลิตก๊าซไนโตรเจนในสภาวะ anaerobic และสามารถพบการแพร่กระจายทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะ anaerobic ได้แก่ ดิน โคลน และตะกอน ซึ่งกระบวนการในการเปลี่ยนไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจน ดังสมการที่ 13 (Batchelor and Lawrence, 1978)

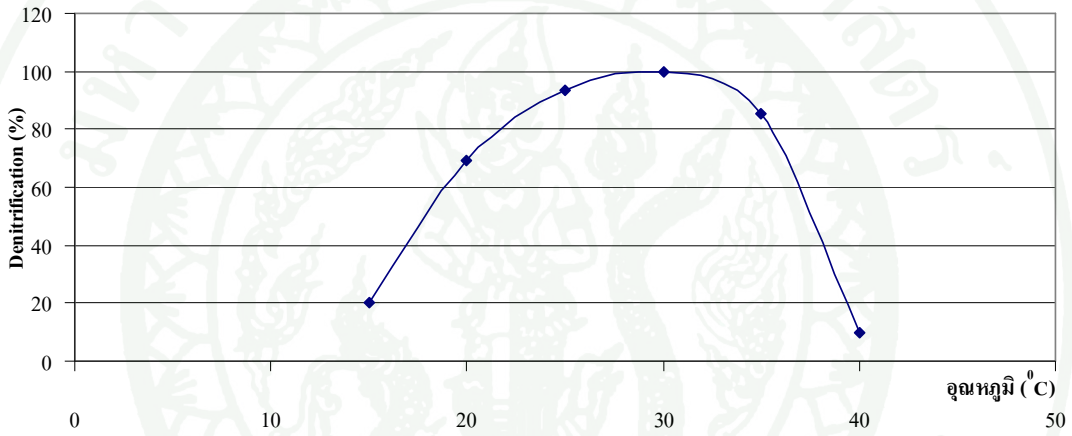
$$55S + 20CO_2 + 50NO_3^- + 38H_2O + 4NH_4^+ \longrightarrow 4C_5H_7O_2N + 25N_2 + 55SO_4^{2-} + 64H^+ \qquad (13)$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* มีดังนี้

1. อุณหภูมิ (Temperature)

Claus and Kutzner (1985) กล่าวว่า แบคทีเรีย *T. denitrificans* มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับ Hensyl (1989) ที่รายงานอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *T. denitrificans* อยู่ในช่วงระหว่าง 28-32 องศาเซลเซียส



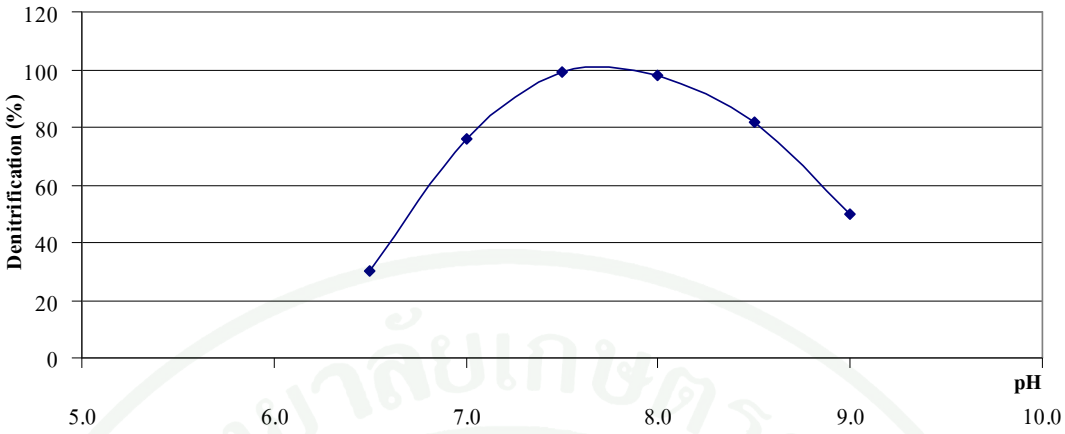

**ภาพที่ 4** ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ (กระบวนการ Denitrification สูงสุดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์)

**ที่มา:** Claus and Kutzner (1985)

2. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

Claus and Kutzner (1985) กล่าวว่า แบคทีเรีย *T. denitrificans* มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ในช่วง 7.5-8.0 ดังภาพที่ 5 ซึ่งแตกต่างจาก Hensyl (1989) ที่รายงานค่า pH ที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในช่วง 6.8-7.4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



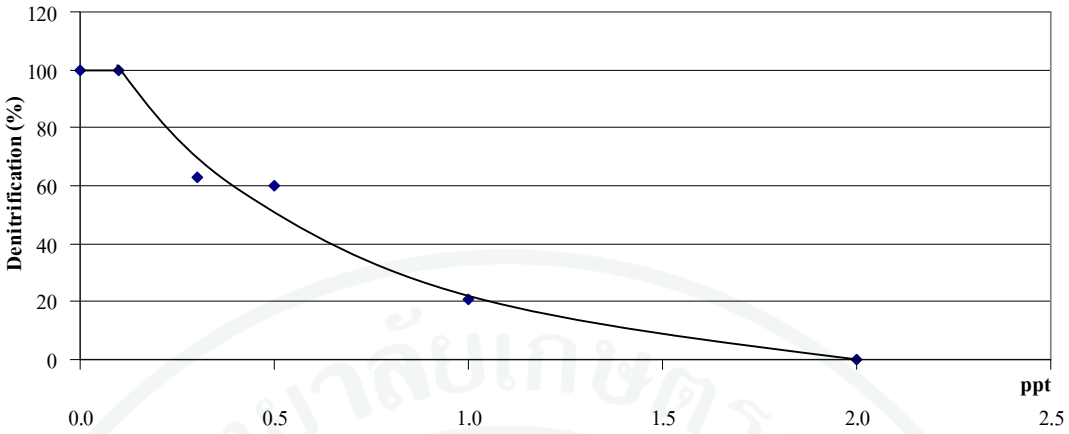

**ภาพที่ 5** ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ระดับต่าง ๆ (กระบวนการ Denitrification สูงสุดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์)

**ที่มา:** Claus and Kutzner (1985)

3. ค่าความเข้มข้นไนไตรท์ (Nitrite concentration)

Claus and Kutzner (1985) กล่าวว่า ความเข้มข้นไนไตรท์ที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ลดลง ดังภาพที่ 6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



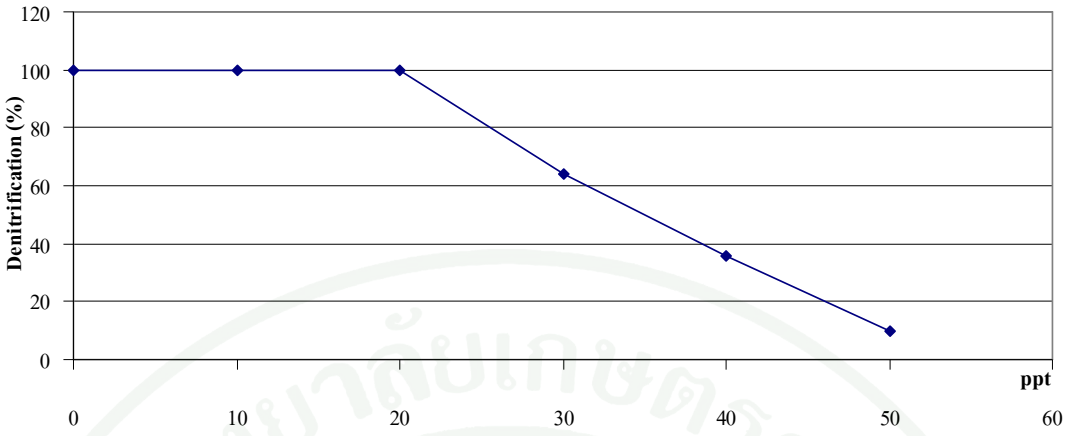

**ภาพที่ 6** ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ความเข้มข้นไนไตรท์ระดับต่าง ๆ (กระบวนการ Denitrification สูงสุดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์)

**ที่มา:** Claus and Kutzner (1985)

4. ความเค็ม (Salinity)

Claus and Kutzner (1985) กล่าวว่า ความเข้มข้นของสารประกอบ sodium chloride ที่มากกว่า 20 ppt มีผลต่อค่า osmotic pressure ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ส่งผลให้กระบวนการบำบัดไนเตรทลดลง ดังภาพที่ 7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



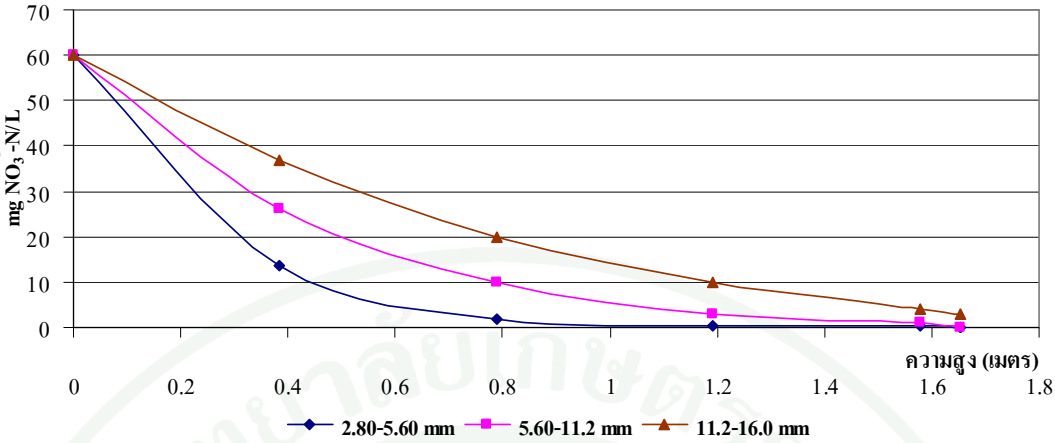

**ภาพที่ 7** ประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ความเข้มข้นของ sodium chloride ระดับต่าง ๆ (กระบวนการ Denitrification สูงสุดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์)

**ที่มา:** Claus and Kutzner (1985)

5. ขนาดเม็ดกำมะถัน (Sulfur granule size)

Moon *et al.* (2006) กล่าวว่า ขนาดของเม็ดกำมะถันที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทที่แตกต่างกัน ซึ่งได้ทดลองใช้เม็ดกำมะถันขนาดน้อยกว่า 2, 2-5 และ มากกว่า 5 มิลลิเมตร พบว่าขนาดเม็ดกำมะถันน้อยกว่า 2 และ 2-5 มิลลิเมตร สามารถบำบัดไนเตรทหมดภายใน 4 วัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Koenig and Liu (2001) ที่ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของขนาดเม็ดกำมะถันที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 8 โดยพบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสามารถอธิบายด้วยพื้นที่ผิวของเม็ดกำมะถันที่แตกต่างกัน ซึ่งเม็ดกำมะถันที่มีขนาดเล็กมีผลให้พื้นที่ผิวบนเม็ดกำมะถันเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* เพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 8** ประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ขนาดเม็ดกำมะถันแตกต่างกัน

**ที่มา:** Koenig *et al.* (2001)

6. สัดส่วน กำมะถัน : หินปูน (Volume ration of sulfur to limestone)

สุรัชดา (2544) ได้ศึกษารูปแบบของตัวกลาง ได้แก่ กำมะถัน กำมะถันผสมหินปูน (3:1) และกำมะถันแยกชั้นกับหินปูน (3:1) ที่อัตราการโปรยกรองและค่าความเข้มข้นไนเตรทต่าง ๆ กัน ในคอลัมน์กำมะถัน-หินปูน พบว่าคอลัมน์ที่บรรจุกำมะถันมีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสูงสุด รองลงมา คือ กำมะถันผสมหินปูน (3:1) และกำมะถันแยกชั้นกับหินปูน (3:1) ที่อัตราการโปรยกรองและค่าความเข้มข้นไนไตรทที่เท่ากัน ส่วน Koenig and Liu (1996) อ้างโดย Koenig and Liu (2002) กล่าวว่า อัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 1:0 มีอัตราการบำบัดไนเตรทสูงสุด ตามด้วยอัตราส่วน 4:1, 2:1 และ 1:1 ตามลำดับ โดยมีอัตราการบำบัดไนเตรทที่ 500, 420, 320 และ 260 g $NO_3^-$-N/$m^3$/d ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Moon *et al.* (2006) ที่อัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 1:1 มีอัตราการบำบัดไนเตรทสูงสุด ตามด้วยอัตราส่วน 3:1, 2:1 และ 4:1 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ระยะเวลากักเก็บน้ำ (Hydraulic retention time, HRT) และอัตราการไหล (Volumetric loading rate, VLR)

กิตติ (2535) ได้ทดลองบำบัดไนเตรทจากถังกรองกำมะถัน-หินปูน โดยกำหนดค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ 25, 50 และ 75 mg $NO_3^-$-N/L และระยะเวลากักเก็บน้ำที่ 10 และ 20 ชั่วโมง พบว่ากระบวนการดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้ทุกสภาวะการทดลอง ส่วน Darbi *et al.* (2003) ทดลองระยะเวลากักเก็บน้ำที่ 26 ชั่วโมง และอัตราการไหลที่ 28, 56 และ 84 g $NO_3^-$-N/$m^3$/d พบว่ามีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรท 95-100 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 1:1, 2:1 และ 3:1 ส่วนระยะเวลากักเก็บน้ำที่ 13 ชั่วโมง และอัตราการไหลที่ 56, 111 และ 167 g $NO_3^-$-N/ $m^3$/d พบว่าที่อัตราการไหล 56 g $NO_3^-$-N/$m^3$/d มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทใกล้เคียงกันที่อัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 1:1, 2:1 และ 3:1 ส่วนที่อัตราการไหล 111 และ 167 g $NO_3^-$-N/ $m^3$/d พบว่าอัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 2:1 สามารถบำบัดไนเตรทได้สูงสุด ส่วนระยะเวลากักเก็บน้ำที่ 8.6 ชั่วโมง และอัตราการไหลที่ 84, 167 และ 251 g $NO_3^-$-N/ $m^3$/d ที่อัตราส่วนกำมะถัน : หินปูน เท่ากับ 2:1 มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทสูงสุด ซึ่งระยะเวลากักเก็บน้ำที่มากจะมีผลให้ระยะเวลาที่น้ำสัมผัสกับแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเพิ่มขึ้น แต่ถ้าระยะเวลากักเก็บน้ำลดลงน้ำจะไหลผ่านระบบบำบัดอย่างรวดเร็ว ทำให้ระยะเวลาที่น้ำสัมผัสกับแบคทีเรียลดน้อยลงส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*
   1.1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* (ภาคผนวก ก)
   1.2 เข็มเขี่ยเชื้อ (Inoculating loop/needle)
   1.3 ขวดแก้ว (Laboratory bottle)
   1.4 หลอดทดลอง (Test tube)
   1.5 จานเลี้ยงเชื้อ (Petri-dish)
   1.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์
   1.7 Centrifuge tube
   1.8 Autopipette และ Tip
   1.9 แผ่นสไลด์ (Slide) และแผ่นปิดสไลด์ (Cover Slide)
   1.10 กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope)
   1.11 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge)
   1.12 เครื่องผสมสาร (Vortex mixter)
   1.13 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
   1.14 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot air oven)
   1.15 เครื่องชั่งสารเคมี
   1.16 ชุดย้อมสีแกรม

2. อุปกรณ์ในระบบบำบัดไนเตรท
   2.1 ตู้ปลาขนาด (กว้าง×ยาว×สูง) 30×50×30 เซนติเมตร
   2.2 เครื่องให้อากาศพร้อมชุดอุปกรณ์ให้อากาศ
   2.3 ชุดแผ่นกรองใต้กรวด
   2.4 กรวดเบอร์ 0
   2.5 ปั๊มน้ำ (RESUN submersible pump SP-500)
   2.6 ขวดพลาสติกทรงกระบอก (ปริมาตร 1 ลิตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร สูง 24 เซนติเมตร)
   2.7 เม็ดกำมะถัน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-0.5 มิลลิเมตร)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.8 หินปูน (เปลือกหอยนางรมบด เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.1 มิลลิเมตร)

2.9 สายยาง PE หรือ VINYL 1/4 นิ้ว (RAIN BIRD)

2.10 วาล์ว 1/4 นิ้ว (RAIN BIRD รุ่น XMV-025)

2.11 ข้อต่อ 2 ทาง (RAIN BIRD รุ่น BF-1)

2.12 ข้อต่อ 3 ทาง (RAIN BIRD รุ่น BF-3)

2.13 ถุงตาข่าย

3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

3.1 เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer HACH รุ่น DR 2010)

3.2 Dissolved Oxygen Meter (YSI Professional Plus)

3.3 pH Meter (YSI Professional Plus)

3.4 กระดาษกรอง GF/C หรือ Membrane Filter (pore size 0.45 μm)

3.5 คอลัมน์แคดเมียม (Cadmium column)

3.6 กระบอกตวง (Graduated cylinder)

3.7 ขวดปริมาตร (Volumetric flask)

3.8 ขวดรูปกรวย (Erlenmeyer flask)

3.9 ปิเปตต์ (Graduated pipet)

3.10 บิวเรตต์ (Burette)

3.11 บีกเกอร์ (Beaker)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# วิธีการ

**การเลี้ยงและการเตรียมแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* (DSM 12475) สำหรับการทดลอง (ดัดแปลงจาก Claus and Kutzner, 1985; Krishna and Philip, 2005)**

1. นำเข้าแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* (DSM 12475) จากประเทศเยรมันนีผ่านทางบริษัท Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)

2. เลี้ยงแบคทีเรีย *T. denitrificans* (DSM 12475) ตามสูตรอาหารที่แสดงในภาคผนวก ก ด้วยอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 48-72 ชั่วโมง ด้วยเครื่องผสมสารละลายชนิดแนวขวาง (Shaker) ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที

3. นำแบคทีเรีย *T. denitrificans* ตามข้อ 2 เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6,000 x g ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ 1-2 ครั้ง แล้วเก็บรักษาแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ที่ค่าความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ในการกำหนดปริมาณของแบคทีเรียแต่ละการทดลอง

**การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน**

1. การทดลองวางแผนแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 14 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน ในแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (0:4)

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:3)

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:2)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:1)

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (2:1)

ชุดการทดลองที่ 6 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (3:1)

ชุดการทดลองที่ 7 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (4:0)

ชุดการทดลองที่ 8 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (0:4)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 9 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:3)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 10 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:2)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 11 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (1:1)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 12 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (2:1)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 13 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (3:1)+*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 14 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน:หินปูน (4:0)+*T. denitrificans*

2. การเตรียมสารละลายไนเตรทสำหรับแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าความเข้มข้น 50 mg $NO_3^-$-N/L ตามสูตรของ Moon *et al.* (2006) ดังนี้

| | |
|---|---|
| $K_2HPO_4$ | 0.1000 g |
| $NH_4Cl$ | 0.1000 g |
| $KNO_3$ | 0.3609 g |

โดยคำนวณค่าความเข้มข้นไนเตรทได้จากสูตรของ สุรัชดา (2544) ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

$A = ((0.7218)/100) \times BC$

โดยที่

A = น้ำหนักของ $KNO_3$ ที่ต้องการในการเตรียมสารละลายไนเตรท (g)
B = ค่าความเข้มข้นของไนเตรทที่ต้องการ (mg $NO_3^-$-N/L)
C = ปริมาตรสารละลายไนเตรทที่ต้องการ (L)

3. นำเม็ดกำมะถันและเปลือกหอยนางรมบด ผสมในหลอดแก้วฝาเกลียวที่ปลอดเชื้อในอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน (ปริมาตร:ปริมาตร) ตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง

4. เตรียมสารละลายไนเตรทตามข้อ 2 หลังจากนั้นทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำสารละลายไนเตรทที่ปลอดเชื้อปริมาตร 40 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดแก้วฝาเกลียวที่บรรจุกำมะถัน:หินปูน ในอัตราส่วนตามข้อ 3

5. นำแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่เตรียมไว้ผสมในหลอดสารละลายไนเตรทตามข้อ 4 โดยกำหนดปริมาณแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่า OD เท่ากับ 1.0 จากนั้นนำหลอดสารละลายไนเตรทที่ได้เก็บในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

6. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดการทดลองโดยวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

6.1 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH Meter)
6.2 ค่าแอมโมเนียรวม (Koroleff' s Indophenol Blue Method)
6.3 ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (Colorimetric Method)
6.4 ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (Cadmium Reduction Method)
6.5 ค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Test Strip)

ที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ยกเว้นค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่วิเคราะห์เวลา 0 และ 120 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลคุณภาพน้ำในแต่ละชุดการทดลอง จะดำเนินการดังนี้ คือ กรณีที่ต้องการเปรียบเทียบสองกลุ่มประชากร จะใช้วิธีการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่มประชากร (Two-Independenct Samples Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป ส่วนในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบมากกว่า 2 กลุ่มประชากรจะใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธีการ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

**การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน**

1. การทดลองวางแผนแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 11 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.1)

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.2)

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.3)

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.4)

ชุดการทดลองที่ 6 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.5)

ชุดการทดลองที่ 7 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.6)

ชุดการทดลองที่ 8 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.7)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 9 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.8)

ชุดการทดลองที่ 10 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 0.9)

ชุดการทดลองที่ 11 สารละลายไนเตรท+กำมะถัน+หินปูน+*T. denitrificans* (OD 1.0)

2. เตรียมสารละลายไนเตรทสำหรับแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าความเข้มข้นไนเตรท 50 mg $NO_3^-$-N/L ตามการทดลองที่ 1

3. นำเม็ดกำมะถันและเปลือกหอยนางรมบด ผสมในหลอดแก้วฝาเกลียวที่ปลอดเชื้อโดยพิจารณาอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน จากผลการทดลองที่ 1

4. นำสารละลายไนเตรทตามข้อ 2 ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำสารละลายไนเตรทที่ปลอดเชื้อปริมาตร 40 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดแก้วฝาเกลียวที่บรรจุกำมะถัน:หินปูน ในอัตราส่วนตามข้อ 3

5. นำแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่เตรียมไว้ผสมในหลอดสารละลายไนเตรทตามข้อ 4 โดยกำหนดปริมาณแบคทีเรีย *T. denitrificans* ให้มีค่า OD ตั้งแต่ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ตามลำดับ จากนั้นนำหลอดสารละลายไนเตรทที่ได้เก็บในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

6. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดการทดลองโดยวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

6.1 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH Meter)

6.2 ค่าแอมโมเนียรวม (Koroleff' s Indophenol Blue Method)

6.3 ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (Colorimetric Method)

6.4 ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (Cadmium Reduction Method)

6.5 ค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Test Strip)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ยกเว้นค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่วิเคราะห์เวลา 0 และ 120 ชั่วโมง

7. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลคุณภาพน้ำในแต่ละชุดการทดลอง จะดำเนินการดังนี้ คือ กรณีที่ต้องการเปรียบเทียบสองกลุ่มประชากร จะใช้วิธีการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่มประชากร (Two-Independenct Samples Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป ส่วนในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบมากกว่า 2 กลุ่มประชากรจะใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธีการ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

**การทดลองที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน**

1. การทดลองวางแผนแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 8 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ โดยการกำหนดให้ค่าความเค็มของแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สารละลายไนเตรทความเค็ม 0 ppt+กำมะถัน+หินปูน

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายไนเตรทความเค็ม 10 ppt+กำมะถัน+หินปูน

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายไนเตรทความเค็ม 20 ppt+กำมะถัน+หินปูน

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายไนเตรทความเค็ม 30 ppt+กำมะถัน+หินปูน

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายไนเตรทความเค็ม 0 ppt+กำมะถัน+หินปูน+ *T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 6 สารละลายไนเตรทความเค็ม 10 ppt+กำมะถัน+หินปูน+ *T. denitrificans*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 7 สารละลายไนเตรทความเค็ม 20 ppt+กำมะถัน+หินปูน+
*T. denitrificans*

ชุดการทดลองที่ 8 สารละลายไนเตรทความเค็ม 30 ppt+กำมะถัน+หินปูน+
*T. denitrificans*

2. เตรียมสารละลายไนเตรทสำหรับแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าความเข้มข้นไนเตรท 50 mg $NO_3^-$-N/L ตามการทดลองที่ 1 และเติม NaCl ตามระดับความเค็มที่ระบุไว้ของแต่ละชุดการทดลอง

3. นำเม็ดกำมะถันและเปลือกหอยนางรมบด ผสมในหลอดแก้วฝาเกลียวที่ปลอดเชื้อโดยพิจารณาอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน จากผลการทดลองที่ 1

4. นำสารละลายไนเตรทตามข้อ 2 ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำสารละลายไนเตรทที่ปลอดเชื้อปริมาตร 40 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดแก้วฝาเกลียวที่บรรจุกำมะถัน:หินปูน ในอัตราส่วนตามข้อ 3

5. นำแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่เตรียมไว้ผสมในหลอดสารละลายไนเตรทตามข้อ 4 โดยกำหนดปริมาณแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่า OD เท่ากับ 1.0 จากนั้นนำหลอดสารละลายไนเตรทที่ได้เก็บในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

6. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดการทดลองโดยวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

6.1 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH Meter)
6.2 ค่าแอมโมเนียรวม (Koroleff' s Indophenol Blue Method)
6.3 ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (Colorimetric Method)
6.4 ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (Cadmium Reduction Method)
6.5 ค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Test Strip)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ120 ชั่วโมง ยกเว้นค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่วิเคราะห์เวลา 0 และ 120 ชั่วโมง

7. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลคุณภาพน้ำในแต่ละชุดการทดลอง จะดำเนินการดังนี้ คือ กรณีที่ต้องการเปรียบเทียบสองกลุ่มประชากร จะใช้วิธีการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่มประชากร (Two-Independenct Samples Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป ส่วนในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบมากกว่า 2 กลุ่มประชากรจะใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธีการ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

**การทดลองที่ 4 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ**

1. การทดลองวางแผนแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ และกำหนดให้แต่ละชุดการทดลองแตกต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 คอลัมน์บำบัดไนเตรท

ชุดการทดลองที่ 2 คอลัมน์บำบัดไนเตรท+*T. denitrificans*

2. การเตรียมตู้ปลาทดลอง ใช้ตู้ปลาขนาด (กว้าง×ยาว×สูง) 30×50×30 เซนติเมตร ล้างทำความสะอาด พร้อมติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศ และคอลัมน์บำบัดไนเตรท แล้วเติมน้ำในแต่ละชุดการทดลองก่อนปล่อยปลา 3 วัน

3. การเตรียมสัตว์ทดลอง การทดลองใช้ปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) ที่ผ่านการปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลอง โดยเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสปริมาตร 500 ลิตร ด้วยอาหารสำเร็จรูปโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ และให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน พร้อมทั้งให้อากาศและเปลี่ยนถ่ายน้ำอย่างสม่ำเสมอเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ แล้วทำการวัดความยาวรวม และชั่งน้ำหนักก่อนสุ่มปลาลงตู้ทดลองตู้ละ 10 ตัว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยมีค่าความยาวรวมเฉลี่ย 9.30±0.51 เซนติเมตร และค่าน้ำหนักเฉลี่ย 10.53±1.40 กรัม ซึ่งตลอดระยะเวลาการทดลองไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ และให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 0.14 กรัม

4. การเตรียมคอลัมน์บำบัดไนเตรท บรรจุเม็ดกำมะถันและเปลือกหอยนางรมบด โดยพิจารณาอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน จากผลการทดลองที่ 1 โดยแยกบรรจุเม็ดกำมะถันและเปลือกหอยนางรมบดลงในถุงตาข่ายก่อนใส่เม็ดกำมะถันในชั้นล่าง และเปลือกหอยนางรมบดในชั้นบนของคอลัมน์บำบัดไนเตรท สำหรับชุดการทดลองที่ 2 หรือ ชุดทดลอง นำแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่า OD เท่ากับ 1.0 ปริมาณ 250 มิลลิลิตร ผสมลงในคอลัมน์บำบัดไนเตรทจนท่วมเม็ดกำมะถันและกักเก็บเป็นระยะเวลา 1 วัน หลังจากนั้นปั๊มน้ำจากตู้ปลาเข้าสู่คอลัมน์บำบัดไนเตรทที่อัตราไหล 1 ลิตรต่อชั่วโมง

5. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดการทดลองโดยวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

| | |
|---|---|
| 5.1 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (YSI Professional Plus) | วิเคราะห์ทุกวัน |
| 5.2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (YSI Professional Plus) | วิเคราะห์ทุกวัน |
| 5.3 อุณหภูมิ (YSI Professional Plus) | วิเคราะห์ทุกวัน |
| 5.4 ค่าแอมโมเนียรวม (Koroleff' s Indophenol Blue Method) | วิเคราะห์ทุก 3 วัน |
| 5.5 ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (Colorimetric Method) | วิเคราะห์ทุก 3 วัน |
| 5.6 ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (Cadmium Reduction Method) | วิเคราะห์ทุก 3 วัน |
| 5.7 ค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Test Strip) | วิเคราะห์ทุก 10 วัน |

โดยแบ่งการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำออกเป็น 2 จุด ได้แก่ น้ำภายในตู้ปลาเป็นจุดที่ 1 ซึ่งทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำตามที่ระบุข้างต้น และน้ำจากคอลัมน์บำบัดไนเตรทเป็นจุดที่ 2 ซึ่งทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉพาะค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิ

6. ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของปลา ดังนี้

| | |
|---|---|
| 6.1 น้ำหนัก (Body weight) | ทุก 15 วัน |
| 6.2 ความยาวรวม (Total length) | ทุก 15 วัน |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก่อนทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวจะหยุดให้อาหารก่อน 1 มื้อ และจดบันทึกอัตราการตายของปลาตลอดการทดลองเป็นระยะเวลา 1 เดือน

7. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลคุณภาพน้ำ และอัตราการเจริญเติบโตของปลาคาร์พในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่มประชากร (Two-Independenct Samples Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

## สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

## ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนตุลาคม 2552 และสิ้นสุดการวิจัยในเดือนกุมภาพันธ์ 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ผลและวิจารณ์

## ผล

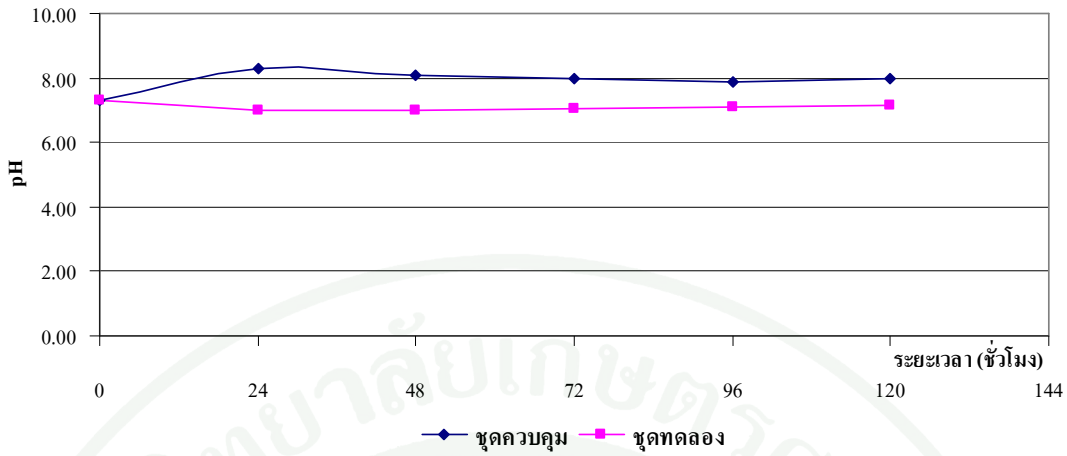
**การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน**

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ที่ค่าความเข้มข้นไนเตรทเริ่มต้น 50 mg $NO_3^-$-N/L ในหลอดทดลอง และทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากหลอดทดลองที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการผสมสารละลายไนเตรทภายในหลอดทดลองให้เข้ากันและดูดสารละลายไนเตรทจากหลอดทดลองมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายไนเตรทที่ผ่านการเจือจางมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังนี้

1. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

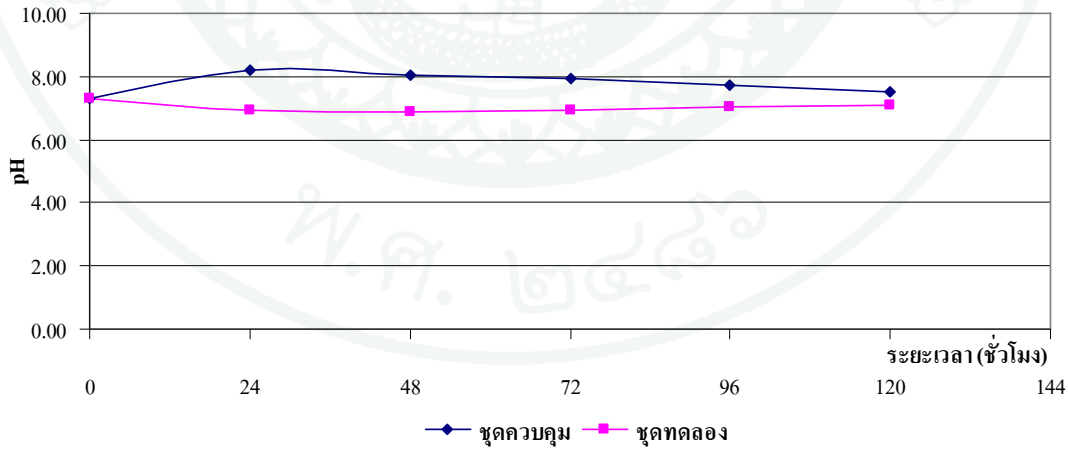
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.27±0.06, 8.11±0.03, 7.96±0.08, 7.89±0.09 และ 7.96±0.08 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 7.00±0.13, 7.00±0.10, 7.06±0.12, 7.08±0.13 และ 7.14±0.12 ตามลำดับ ดังภาพที่ 9

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 9** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4

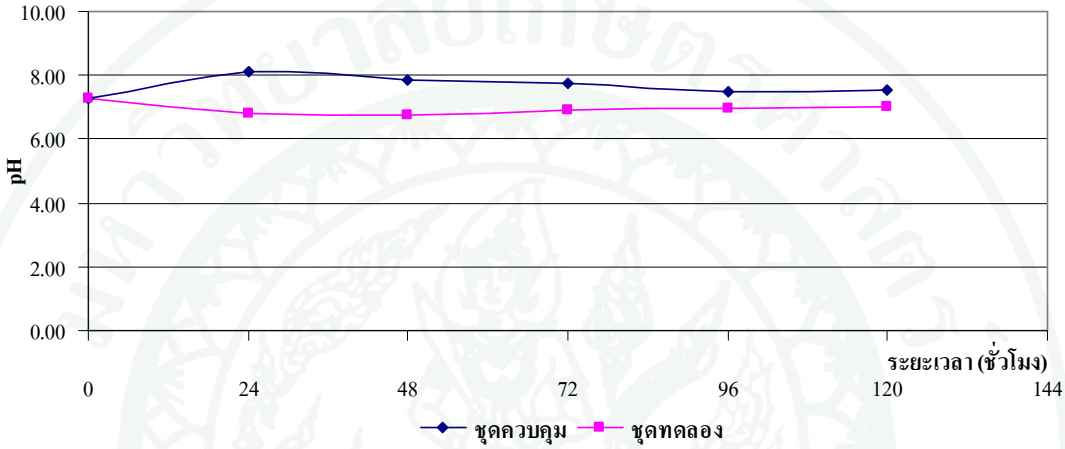
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.20±0.12, 8.06±0.06, 7.96±0.08, 7.71±0.13 และ 7.52±0.14 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 6.94±0.15, 6.88±0.13, 6.95±0.14, 7.03±0.14 และ 7.08±0.09 ตามลำดับ ดังภาพที่ 10




**ภาพที่ 10** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

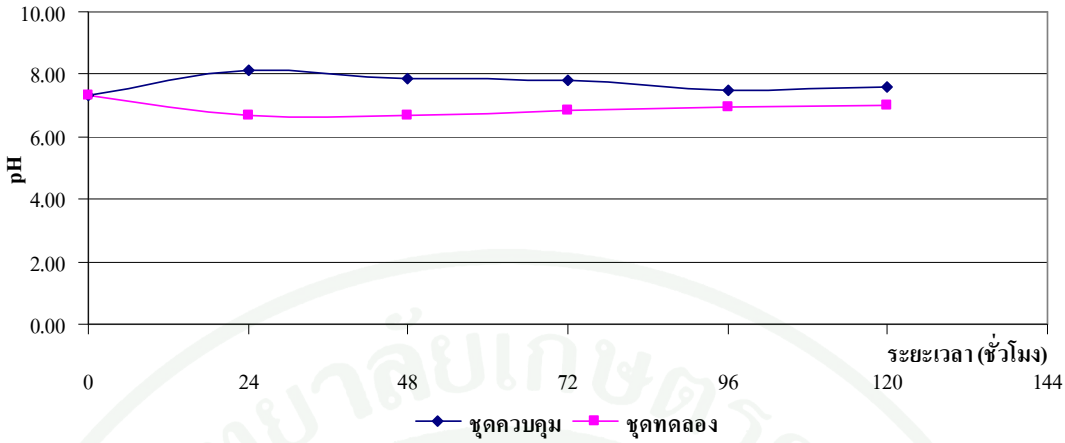
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.14±0.07, 7.87±0.08, 7.77±0.12, 7.48±0.26 และ 7.51±0.13 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 6.79±0.19, 6.78±0.18, 6.90±0.10, 6.98±0.08 และ 7.04±0.03 ตามลำดับ ดังภาพที่ 11




**ภาพที่ 11** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2

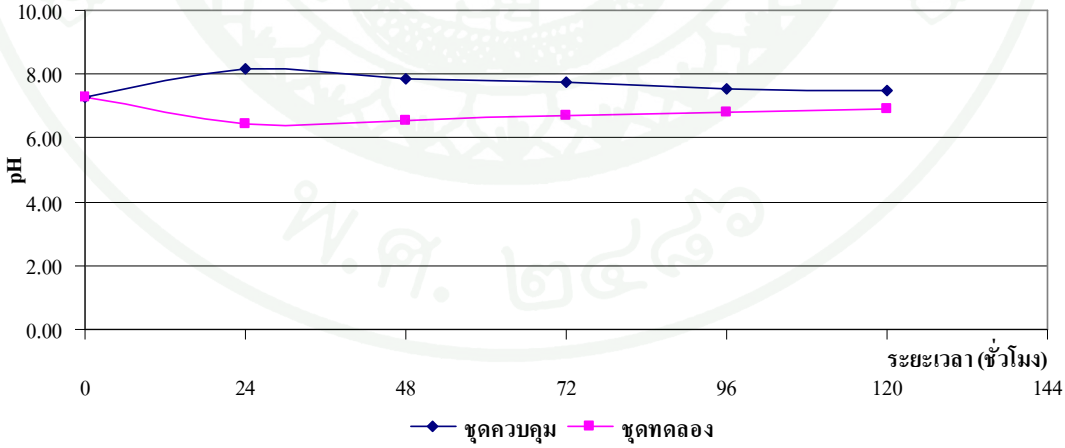
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.12±0.07, 7.88±0.09, 7.82±0.09, 7.50±0.15 และ 7.58±0.15 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 6.67±0.19, 6.70±0.18, 6.82±0.17, 6.93±0.13 และ 7.02±0.09 ตามลำดับ ดังภาพที่ 12

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 12** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1

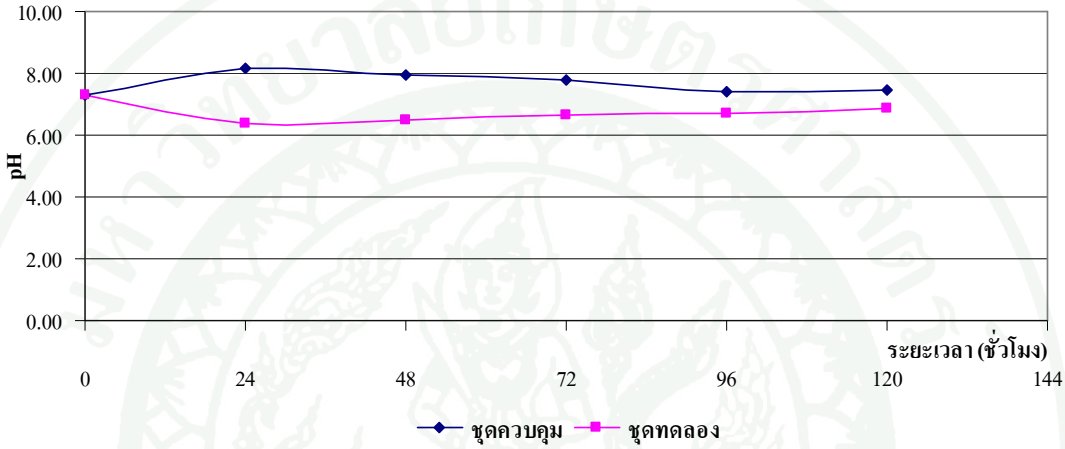
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.16±0.06, 7.85±0.01, 7.77±0.05, 7.52±0.16 และ 7.50±0.27 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 6.46±0.22, 6.56±0.21, 6.69±0.11, 6.80±0.06 และ 6.92±0.04 ตามลำดับ ดังภาพที่ 13




**ภาพที่ 13** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

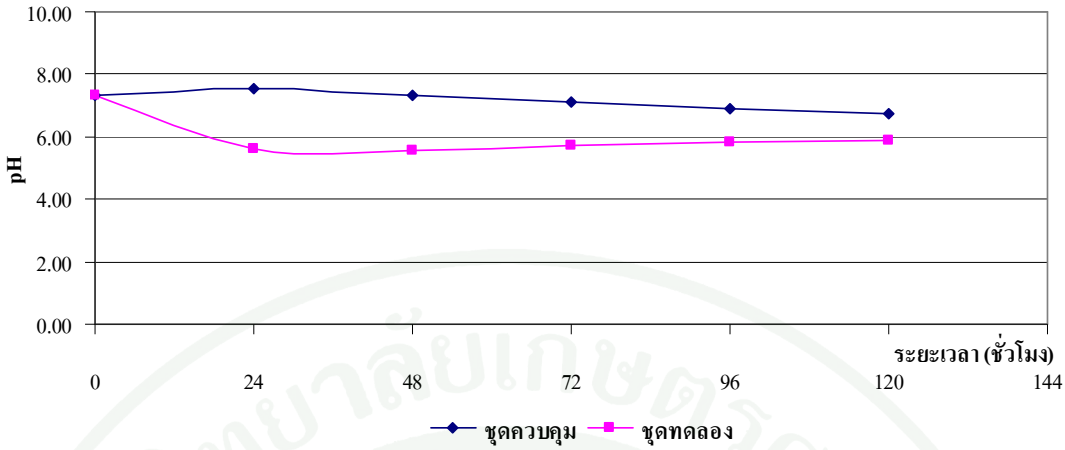
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 8.17±0.06, 7.92±0.08, 7.80±0.05, 7.40±0.32 และ 7.47±0.14 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 6.39±0.22, 6.62±0.13, 6.51±0.17, 6.70±0.80 และ 6.84±0.05 ตามลำดับ ดังภาพที่ 14




**ภาพที่ 14** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1

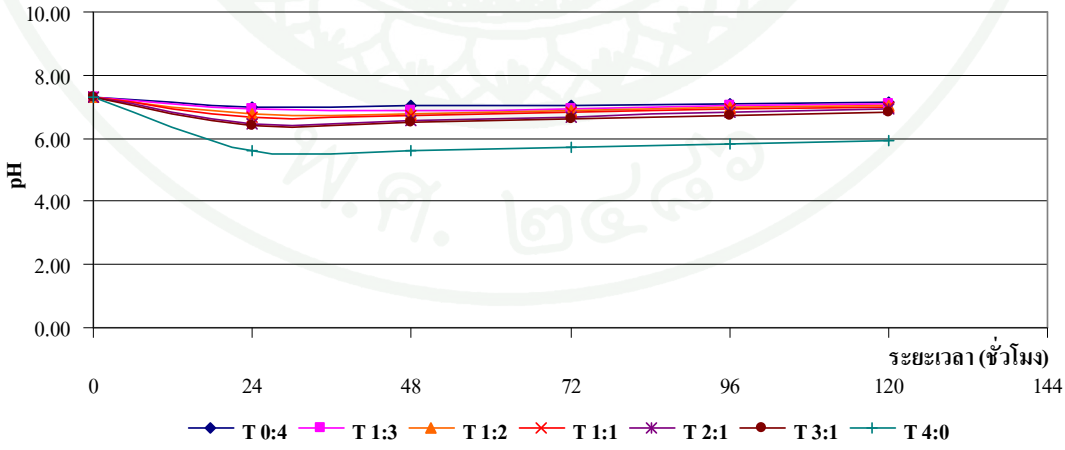
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 7.56±0.01, 7.32±0.08, 7.13±0.05, 6.87±0.06 และ 6.74±0.01 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 5.62±0.46, 5.59±0.34, 5.71±0.09, 5.84±0.08 และ 5.90±0.07 ตามลำดับ ดังภาพที่ 15

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 15** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) สำหรับอัตราส่วนกำมะถัน: หินปูน 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ของชุดทดลองพบว่าค่า pH มีแนวโน้มลดลงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง จนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่า pH เฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 7.10±0.11, 7.03±0.15, 6.96±0.19, 6.90±0.23, 6.79±0.30, 6.73±0.32 และ 5.99±0.65 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่า pH ลดลงตามสัดส่วนของหินปูนที่ลดลง ดังภาพที่ 16

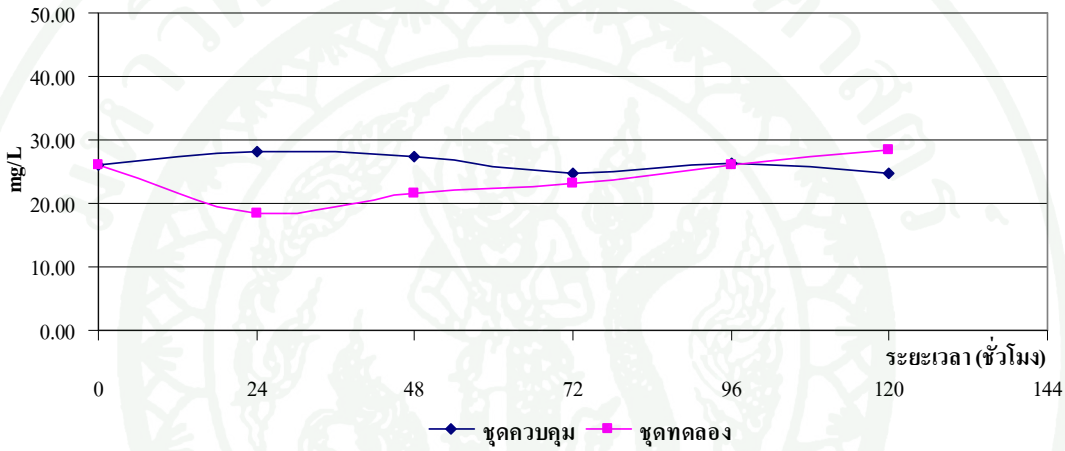



**ภาพที่ 16** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม

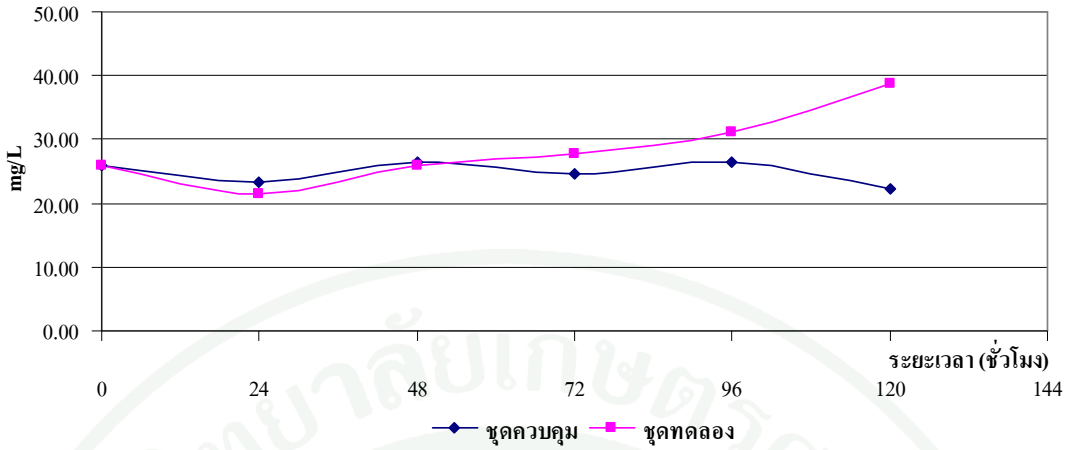
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 ที่ระยะเวลา 24 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 28.17±1.68 และ 24.68±2.38 mg/L ตามลำดับ และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 18.38±1.37 และ 28.32±0.61 mg/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 17




**ภาพที่ 17** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4

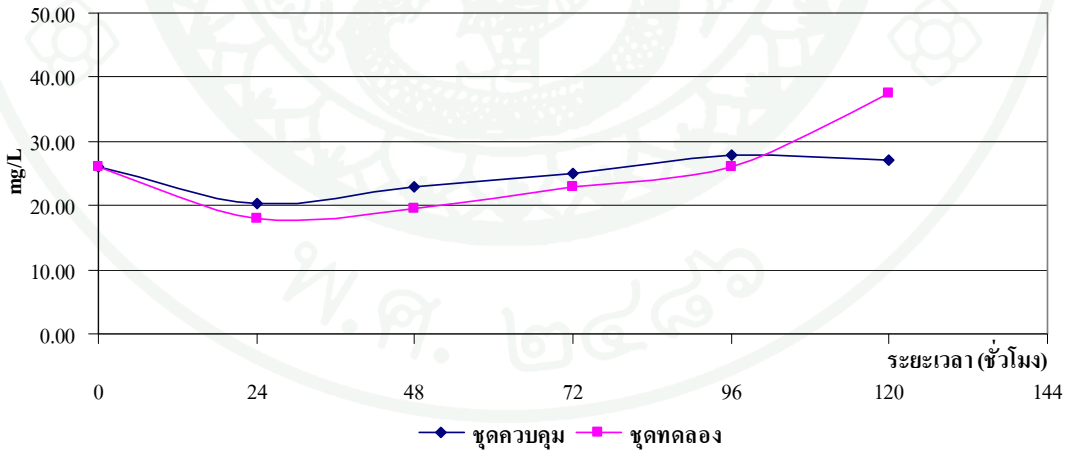
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 22.36±1.10 mg/L และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 38.86±0.36 mg/L แต่ที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 18

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 18** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 27.05±2.27 mg/L และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 37.54±0.92 mg/L แต่ที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 19

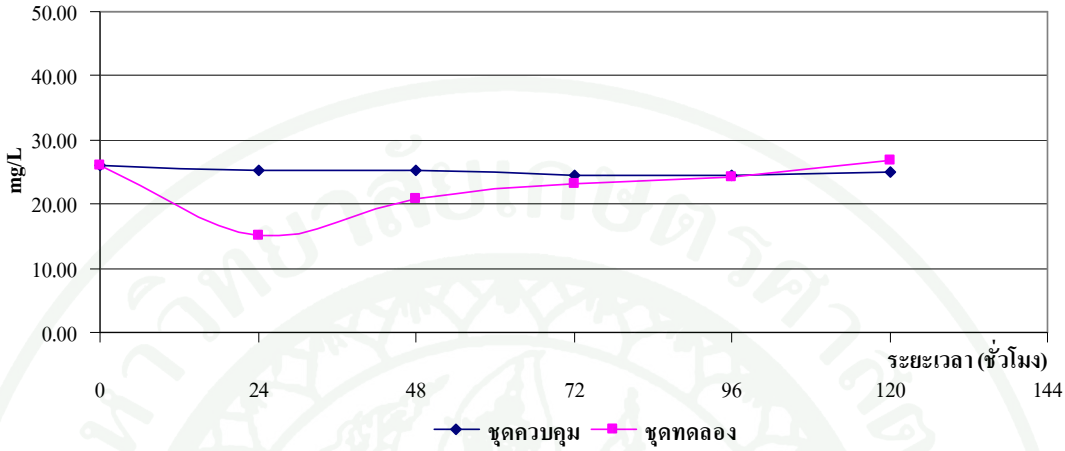



**ภาพที่ 19** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมี

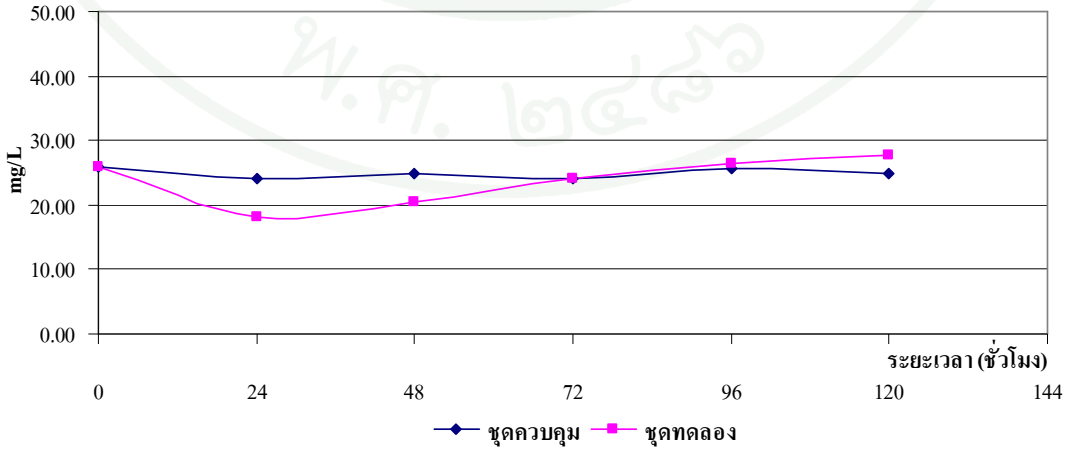
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ค่าเฉลี่ยที่ 25.20±0.65 mg/L และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 15.16±2.59 mg/L แต่ที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 20




**ภาพที่ 20** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1

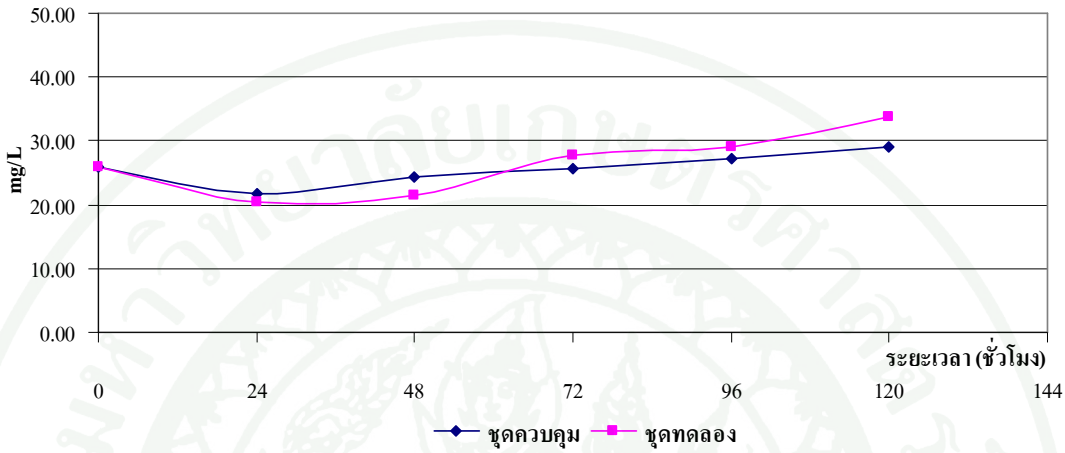
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 ที่ระยะเวลา 24 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 24.06±1.65 และ 24.87±2.94 mg/L ตามลำดับ และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 18.15±0.83 และ 32.21±1.89 mg/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 21




**ภาพที่ 21** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1

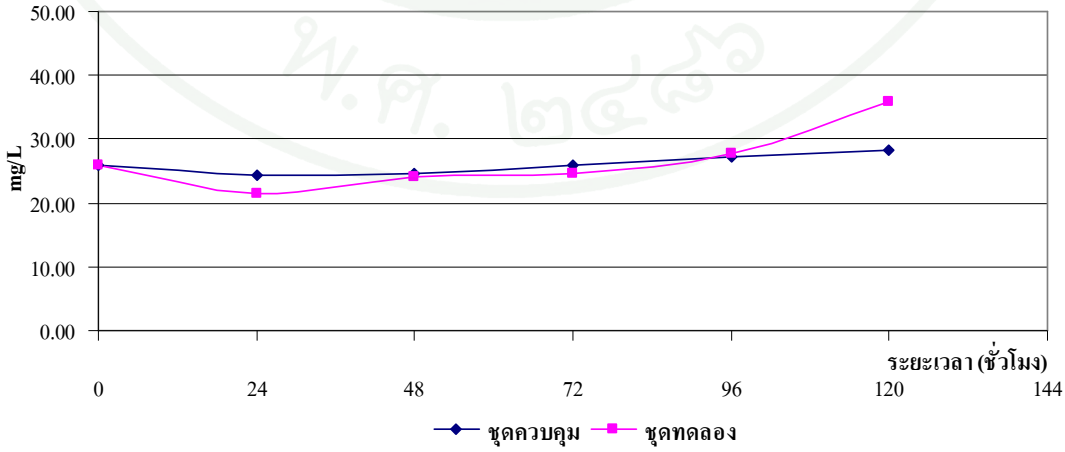
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง ดังภาพที่ 22




**ภาพที่ 22** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1

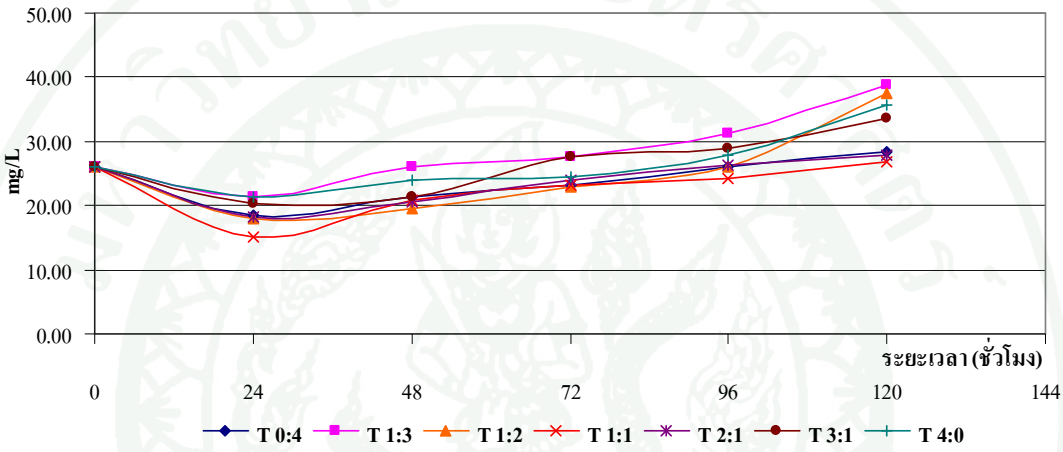
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 28.17±0.25 mg/L และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 35.79±1.76 mg/L แต่ที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 23




**ภาพที่ 23** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม สำหรับอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ของชุดทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมมีแนวโน้มลดลงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง จนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 23.89±3.63, 28.51±5.99, 25.01±6.98, 22.73±4.27, 23.82±3.75, 26.36±4.95 และ 26.60±4.98 ตามลำดับ ซึ่งที่อัตราส่วน 1:1 มีค่าแอมโมเนียรวมเฉลี่ยต่ำสุด ดังภาพที่ 24

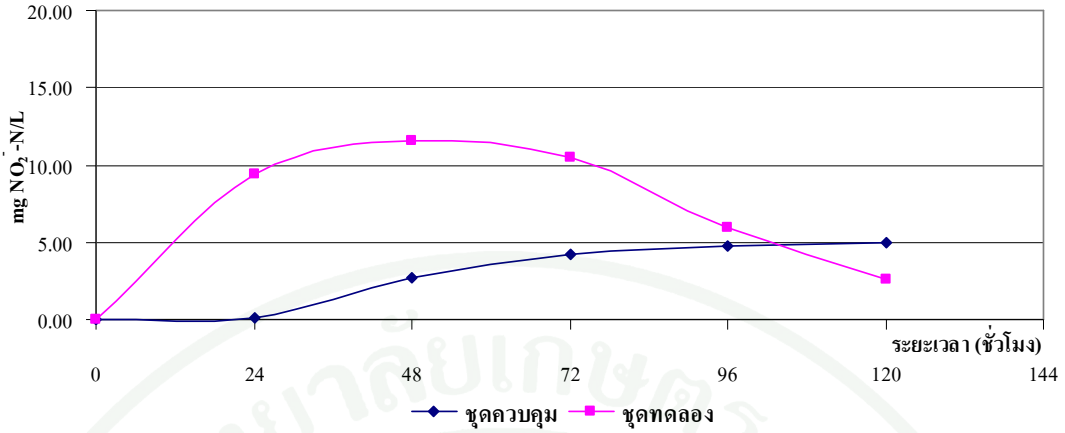



**ภาพที่ 24** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน

3. ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจน

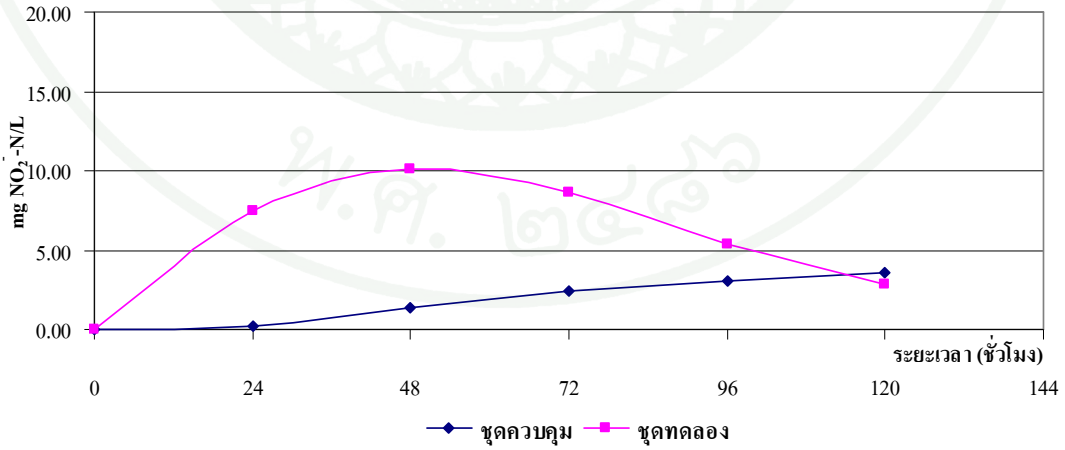
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0 :4 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.12±0.20, 2.67±0.87 และ 4.24±0.61 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 9.43±0.77, 11.54±0.92 และ 10.48±1.08 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 25

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 25** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4

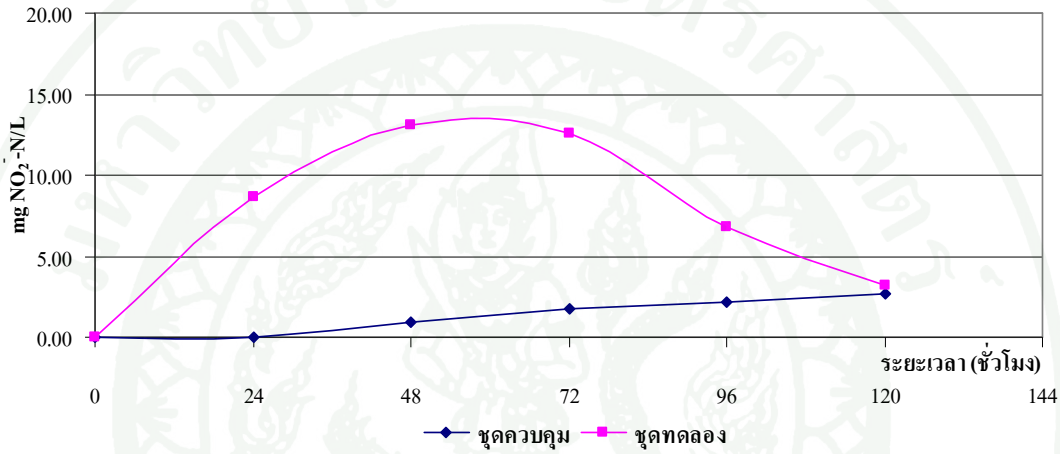
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.16±0.29, 1.38±1.07 และ 2.44±0.97 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 7.45±1.27, 10.11±1.94 และ 8.64±2.81 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 26




**ภาพที่ 26** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

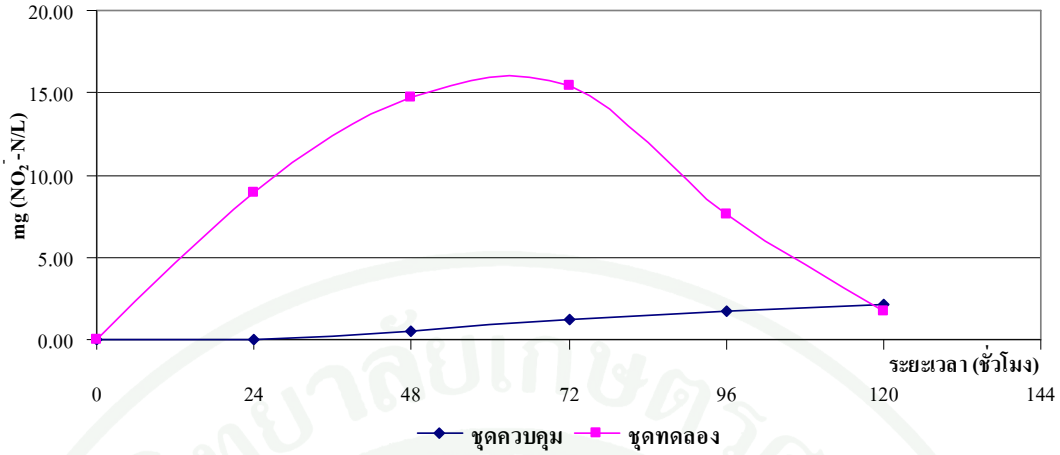
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.00±0.00, 0.93±0.04, 1.74±0.11 และ 2.19±0.04 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 8.66±2.38, 13.12±3.70, 12.59±5.62 และ 6.85±2.97 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 27




**ภาพที่ 27** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2

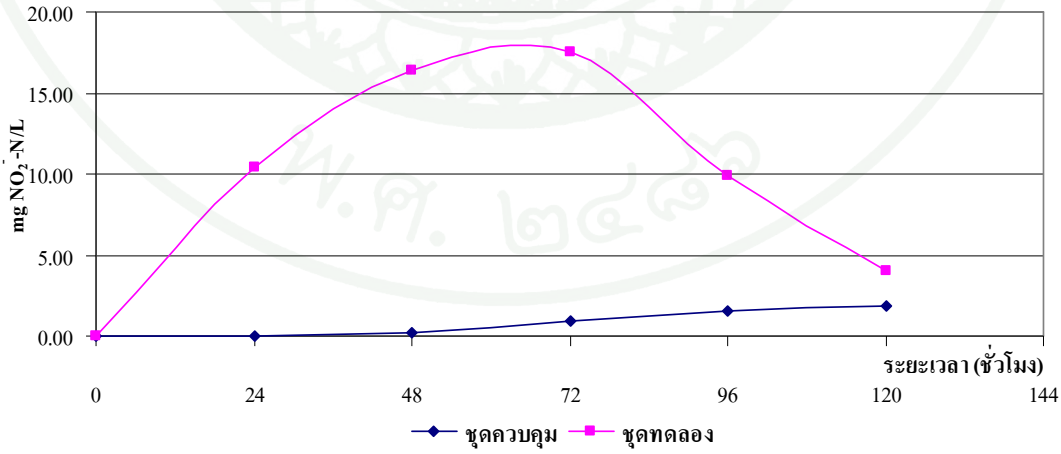
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.00±0.00, 0.49±0.43, 1.25±0.07 และ 1.76±0.39 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 8.94±1.51, 14.71±2.18, 15.46±2.58 และ 7.65±1.32 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 28

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 28** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1

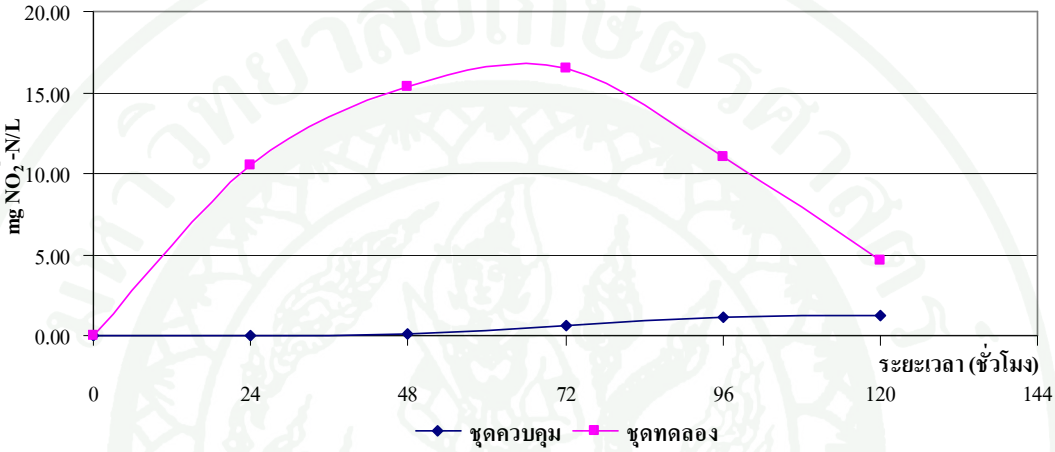
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.00±0.00, 0.23±0.35, 0.91±0.32 และ 1.53±0.26 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 10.41±1.31, 16.41±3.49, 17.49±4.03 และ 9.91±2.31 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 29




**ภาพที่ 29** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

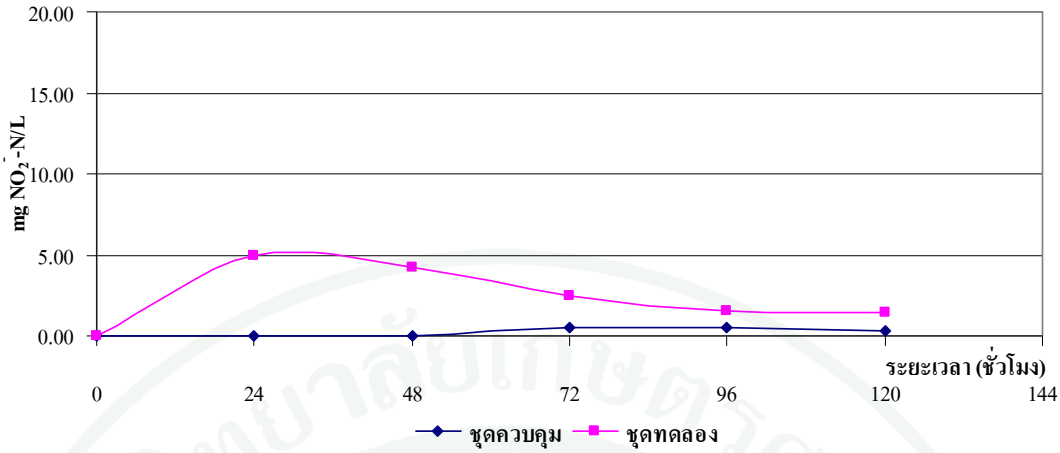
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งชุดควบคุมมีค่าที่ 0.00±0.00, 0.09±0.11, 0.60±0.23, 1.16±0.59 และ 1.27±0.51 mg $NO_2^-$-N/Lตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 10.48±1.02, 15.33±2.19, 16.50±3.01, 11.03±1.74 และ 4.64±2.49 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 30




**ภาพที่ 30** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1

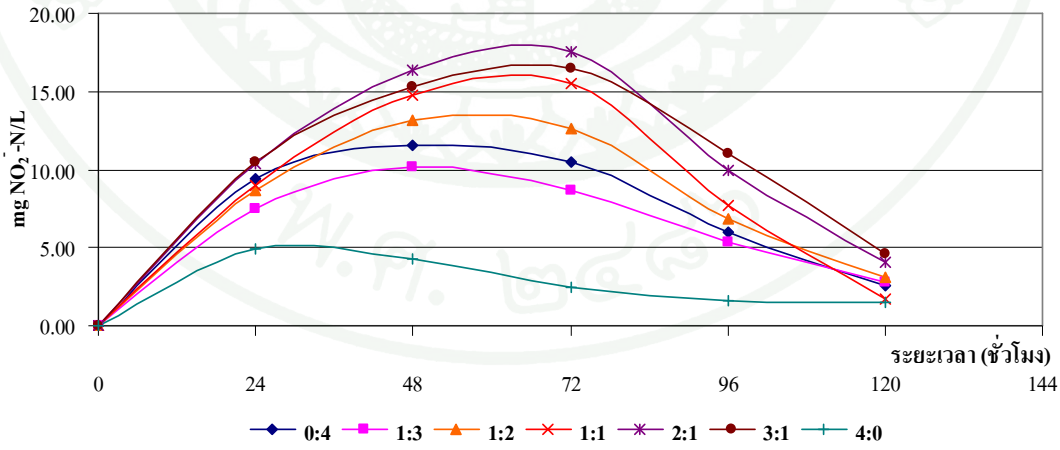
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 พบว่าที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าที่ 0.00±0.00 และ 0.05±0.08 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าที่ 4.96±0.18 และ 4.28±0.21 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 31

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 31** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ของชุดทดลอง พบว่าค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง และมีแนวโน้มลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองที่ 6.66±4.64, 5.73±3.80, 7.40±5.19, 8.08±6.40, 9.71±6.81, 9.66±6.32 และ 2.46±1.86 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 32

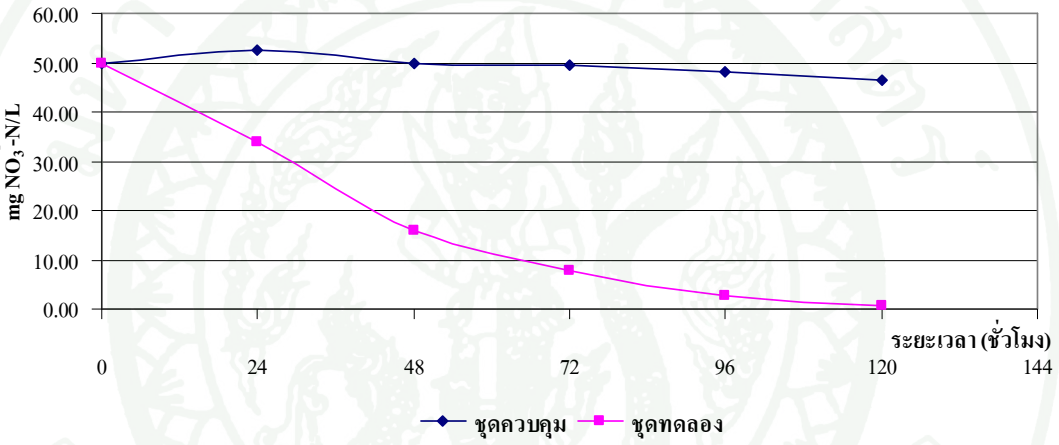



**ภาพที่ 32** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูนแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน

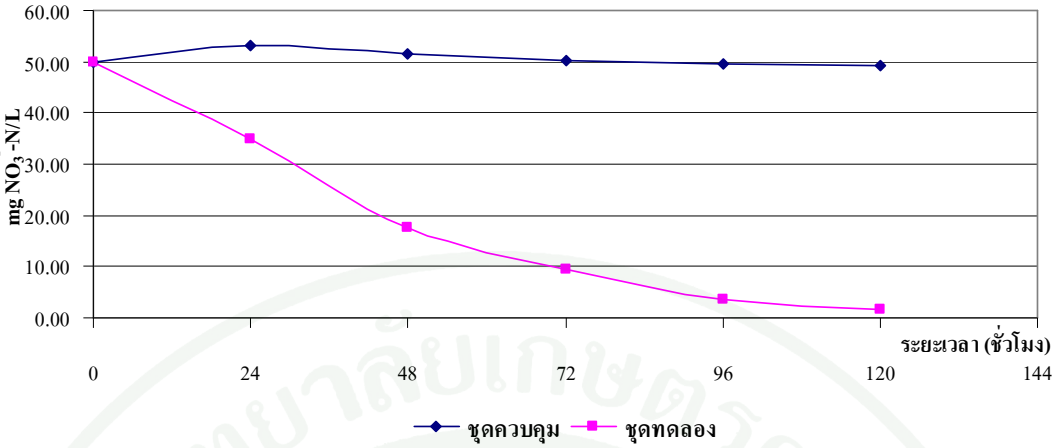
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 52.53±1.33, 49.97±1.24, 49.50±1.30, 48.22±0.78 และ 46.56±0.67 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 33.98±2.84, 15.83±3.85, 7.80±3.17, 2.64±2.91และ 0.71±0.56 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 33




**ภาพที่ 33** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4

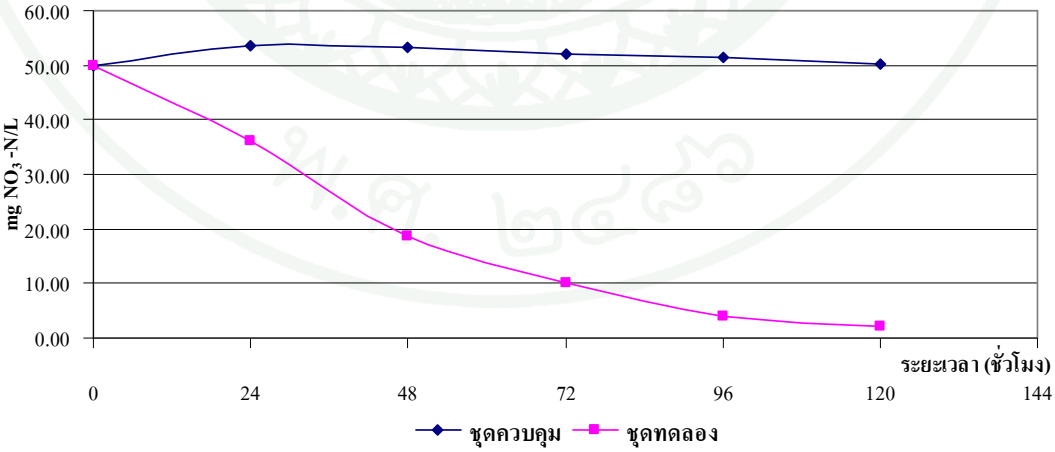
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 53.17±1.66, 51.56±0.72, 50.22±1.29, 49.55±1.52 และ 49.11±2.04 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 34.99±1.87, 17.72±3.83, 9.35±3.21, 3.61±2.16 และ 1.62±0.65 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 34

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 34** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:3

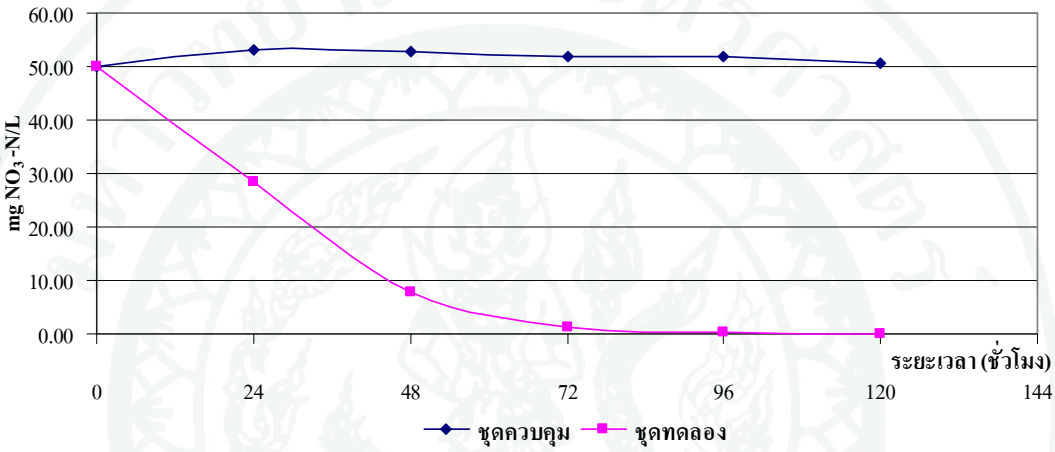
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 53.48±2.32, 53.12±2.23, 52.02±2.03, 51.34±2.20 และ 50.25±2.41 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 36.12±2.00, 18.60±4.31, 10.03±2.77, 4.04±2.07 และ 2.09±0.56 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 35




**ภาพที่ 35** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

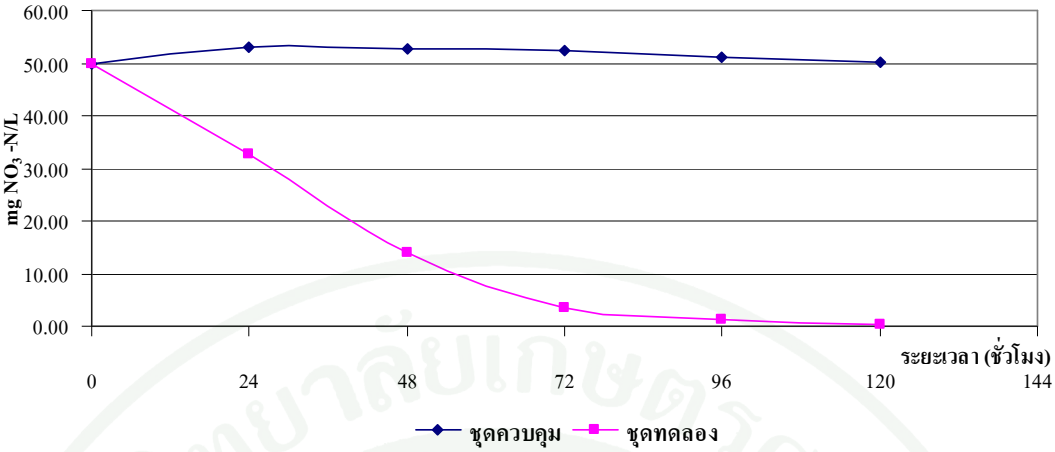
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 53.27±1.28, 52.88±1.01, 52.03±1.65, 51.82±1.78 และ 50.64±1.82 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 28.48±3.17, 7.71±4.07, 1.26±2.19, 0.32±0.56 และ 0.00±0.00 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 36




**ภาพที่ 36** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1

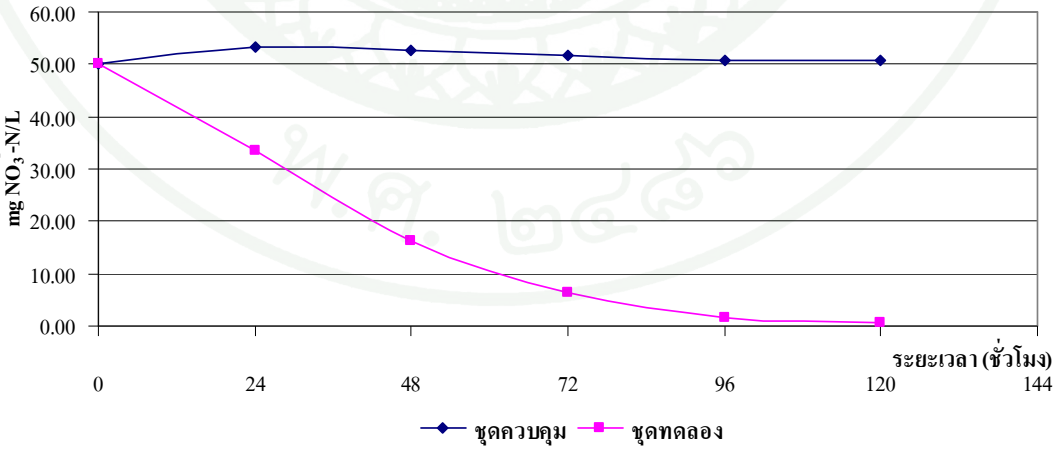
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 52.95±1.99, 52.58±1.86, 52.27±1.57, 51.10±1.68 และ 50.25±1.16 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 32.60±3.83, 14.05±5.09, 3.41±5.19, 1.31±2.27 และ 0.30±0.52 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 37

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 37** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 2:1

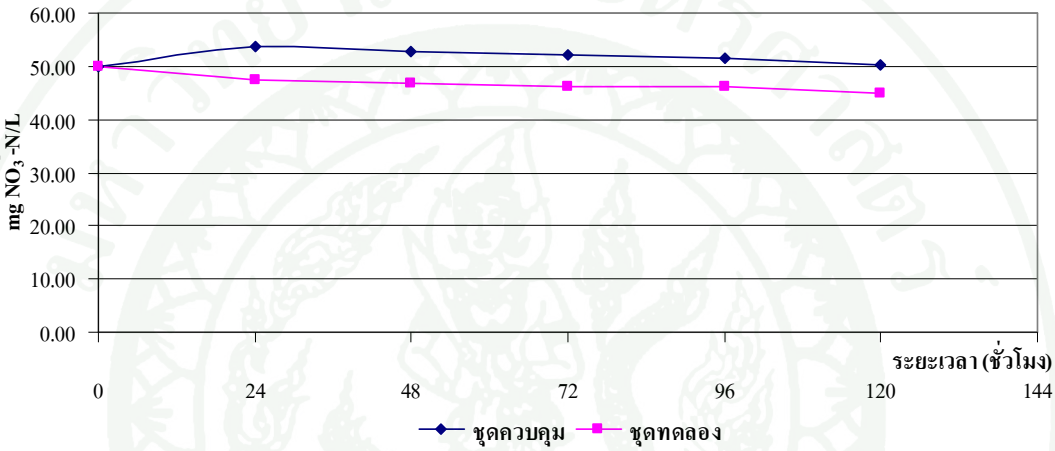
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 53.42±1.98, 52.68±2.45, 51.55±2.15, 50.88±1.47 และ 50.60±1.42 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 33.47±2.79, 16.34±6.66, 6.36±6.46, 1.70±2.95 และ 0.49±0.85 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 38




**ภาพที่ 38** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 3:1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

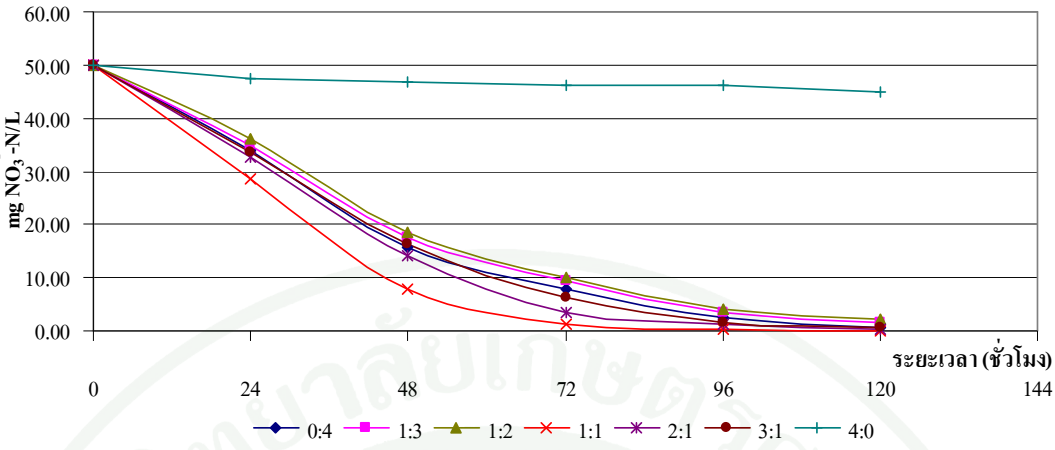
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0 ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 53.73±2.16, 52.85±2.57, 52.27±2.22, 51.48±1.90 และ 50.23±1.79 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยที่ 47.49±2.35, 46.94±2.27, 46.31±1.97, 46.23±1.95 และ 44.99±3.60 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 39




**ภาพที่ 39** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 4:0

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ของชุดทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง อัตราส่วน 1:1 มีค่าความเข้มข้นไนเตรทน้อยกว่าอัตราส่วนอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่า 28.48±3.17 และ 7.71±4.07 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง อัตราส่วน 1:1, 2:1 และ 3:1 ค่าความเข้มข้นไนเตรทไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนที่ระยะเวลา 96 และ 120 ชั่วโมง อัตราส่วน 1:1, 2:1, 3:1, 0:4, 1:3 และ 1:2 ค่าความเข้มข้นไนเตรทไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่อัตราส่วน 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1 , 3:1 และ 4:0 มีค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 18.49±19.60, 19.55±19.23, 20.15±19.17, 14.63±20.44, 16.94±20.25, 18.06±19.87 และ 46.99±1.69 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 40

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 40** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูนแตกต่างกัน

5. ค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 ในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* พบว่าไม่ปรากฏค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง

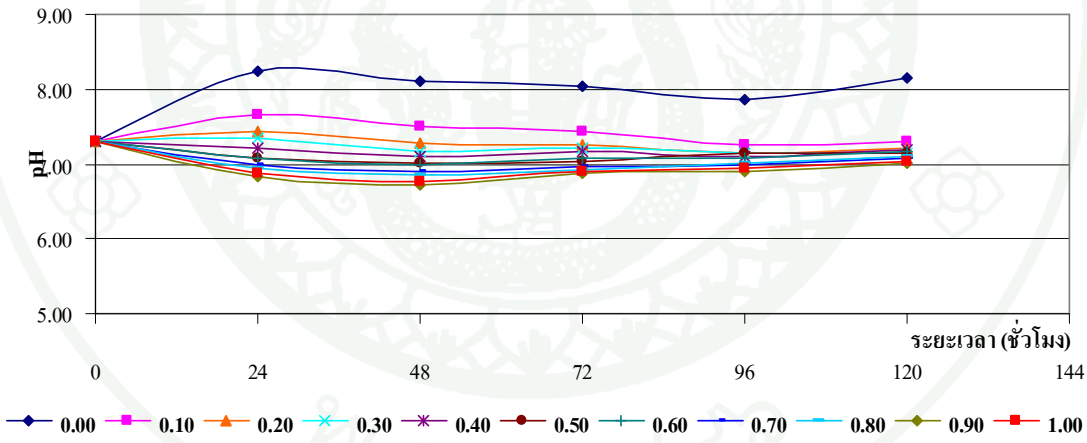
**การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน**

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของปริมาณแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ในหลอดทดลองที่ค่าความเข้มข้นไนเตรทเริ่มต้น 50 mg $NO_3^-$-N/L โดยทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากหลอดทดลองที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการผสมสารละลายไนเตรทภายในหลอดทดลองให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายไนเตรทในหลอดทดลองที่ค่า OD ต่าง ๆ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และนำสารละลายที่ผ่านการเจือจางมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ค่า OD ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน พบว่าค่า OD เท่ากับ 0.0 มีค่า pH เฉลี่ยมากกว่าค่า OD อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง แต่ที่ค่า OD เท่ากับ 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ1.0 ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และ พบว่าค่า OD เท่ากับ 0.3 และ 0.4 ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับค่า OD เท่ากับ 0.5, 0.6 , 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ส่วนค่า OD เท่ากับ 0.1 และ 0.2 ที่ระยะเวลา 96 และ 120 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับค่า OD เท่ากับ 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 โดยค่า OD เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มีค่า pH เฉลี่ยตลอดการทดลองที่ 7.95±0.34, 7.41±0.16, 7.27±0.10, 7.22±0.09, 7.18±0.07, 7.12±0.10, 7.11±0.11, 7.04±0.14, 7.02±0.16, 6.94±0.20 และ 6.97±0.18 ตามลำดับ ดังภาพที่ 41



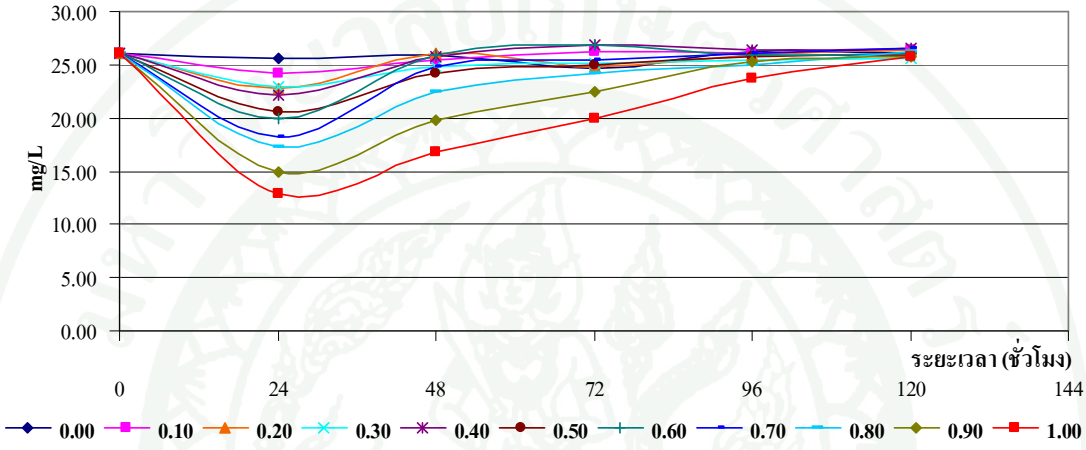

**ภาพที่ 41** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน

2. ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ค่า OD ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน พบว่าค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมมีค่าลดลงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นหลังจากชั่วโมงที่ 24 จนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งค่า OD ที่สูงขึ้นจะมีแนวโน้มในการลดปริมาณแอมโมเนียรวมได้มากกว่าค่า OD ที่ต่ำกว่า โดยค่า OD เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มีค่าแอมโมเนียรวมเฉลี่ยตลอดการทดลองที่ 25.76±0.56, 25.72±0.80, 25.33±1.34, 24.99±1.08, 25.62±1.73, 24.55±2.07, 25.13±2.53, 24.52±3.10, 23.54±3.34, 22.40±4.34 และ 20.81±5.30 ตามลำดับ ดังภาพที่ 42

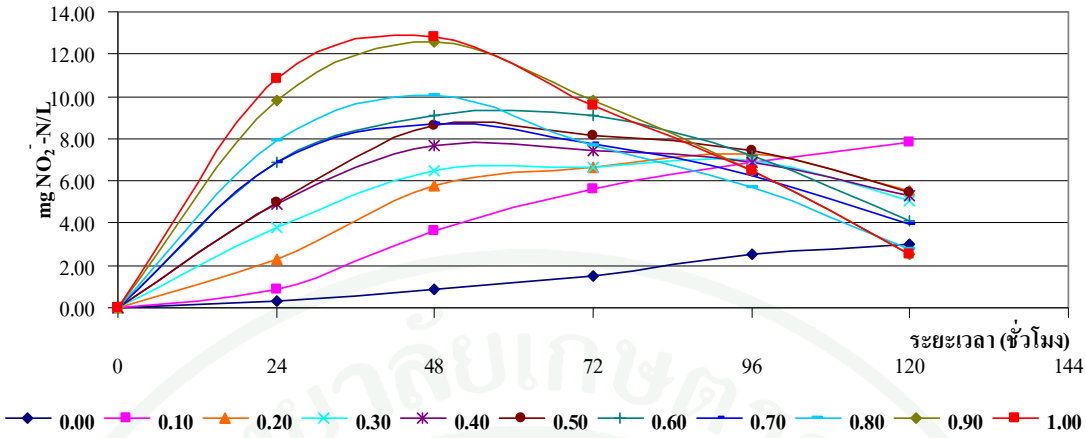



**ภาพที่ 42** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน

3. ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจน

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ค่า OD ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน พบว่าค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลองและมีแนวโน้มลดลงในช่วงท้ายของการทดลองที่ค่า OD เท่ากับ 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ส่วนที่ค่า OD เท่ากับ 0.0 และ 0.1 พบว่าค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง โดยที่ค่า OD เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มีค่าความเข้มข้นไนตรท์เฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 1.36±1.21, 4.14±3.21, 4.58±2.83, 4.83±2.65, 5.37±2.87, 5.78±3.18, 6.07±3.49, 5.58±3.17, 5.69±3.72, 6.86±4.82 และ 7.04±4.99 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 43

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

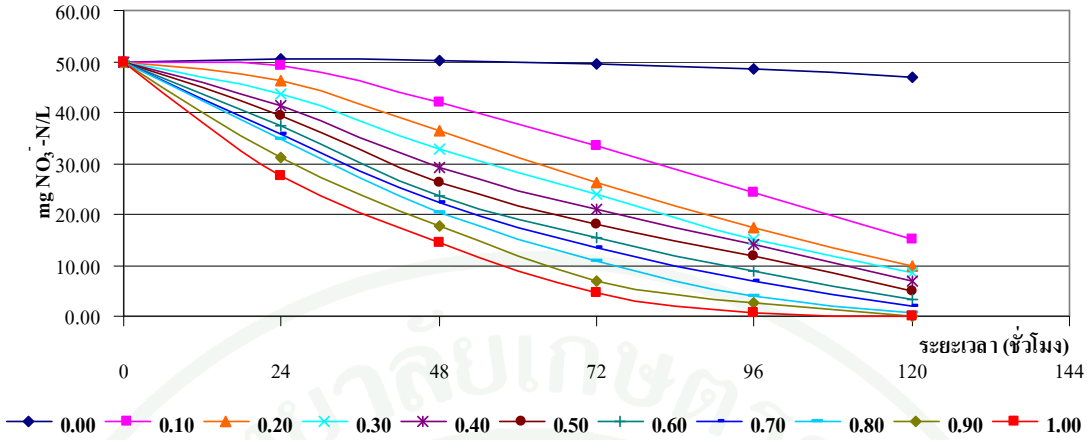



**ภาพที่ 43** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน

4. ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ค่า OD ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน พบว่าค่า OD เท่ากับ 1.0 มีค่าความเข้มข้นไนเตรทต่ำกว่าค่า OD อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 27.42±0.79 และ 14.30±0.76 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าค่า OD เท่ากับ 1.0 และ 0.9 มีค่าความเข้มข้นไนเตรทต่ำกว่าค่า OD อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 4.65±1.32 และ 6.96±1.77 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าค่า OD เท่ากับ 1.0, 0.9, 0.8 และ 0.7 มีค่าความเข้มข้นไนเตรทต่ำกว่าค่า OD อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ย 0.79±0.91, 2.65±2.00, 3.88±3.55 และ 7.00±5.03 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าค่า OD เท่ากับ 1.0, 0.9, 0.8, 0.7 และ 0.6 มีค่าความเข้มข้นไนเตรทต่ำกว่าค่า OD อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยที 0±0.00, 0.14±0.05, 0.79±0.92, 2.01±1.41 และ 3.25±1.99 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ซึ่งค่า OD ที่ 1.0 มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสูงสุด ดังภาพที่ 44

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 44** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ค่า Optical density ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกัน

5. ค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์จากการบำบัดไนเตรท ที่ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* พบว่าไม่ปรากฏค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ในทุกค่า OD

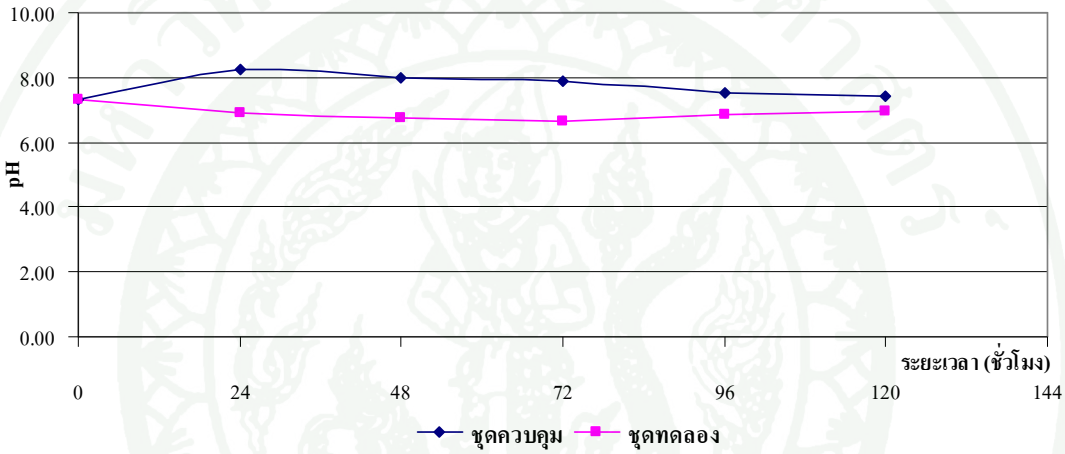
**การทดลองที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน**

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt ในหลอดทดลอง ที่ค่าความเข้มข้นไนเตรทเริ่มต้น 50 mg $NO_3^-$-N/L โดยทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากหลอดทดลองที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการผสมสารละลายไนเตรทภายในหลอดทดลองให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายไนเตรทในหลอดทดลองที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และนำสารละลายไนเตรทที่ผ่านการเจือจางมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

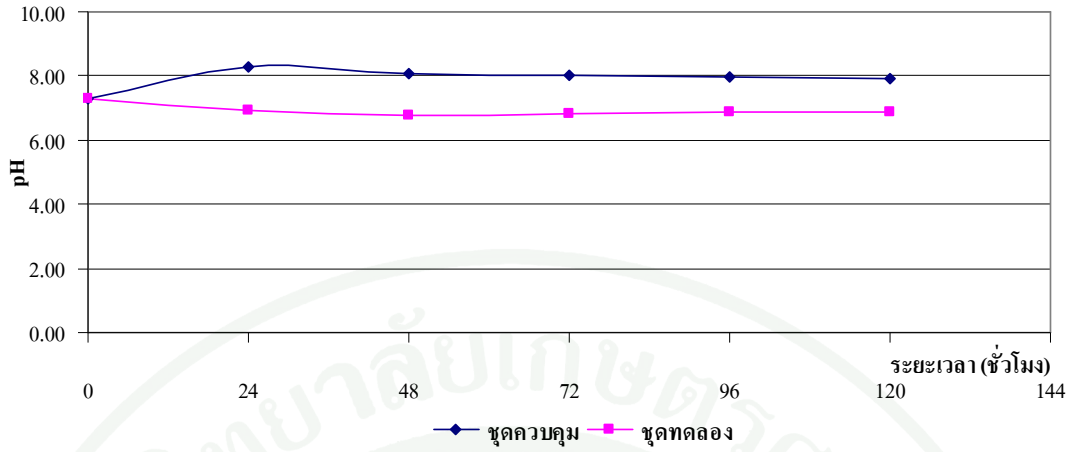
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ระดับความเค็ม 0 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่า pH ที่ 8.26±0.07, 7.97±0.09, 7.89±0.09, 7.51±0.06 และ 7.42±0.08 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า pH ที่ 6.88±0.16, 6.74±0.19, 6.67±0.20, 6.84±0.15 และ 6.95±0.18 ตามลำดับ ดังภาพที่ 45




**ภาพที่ 45** ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 0 ppt

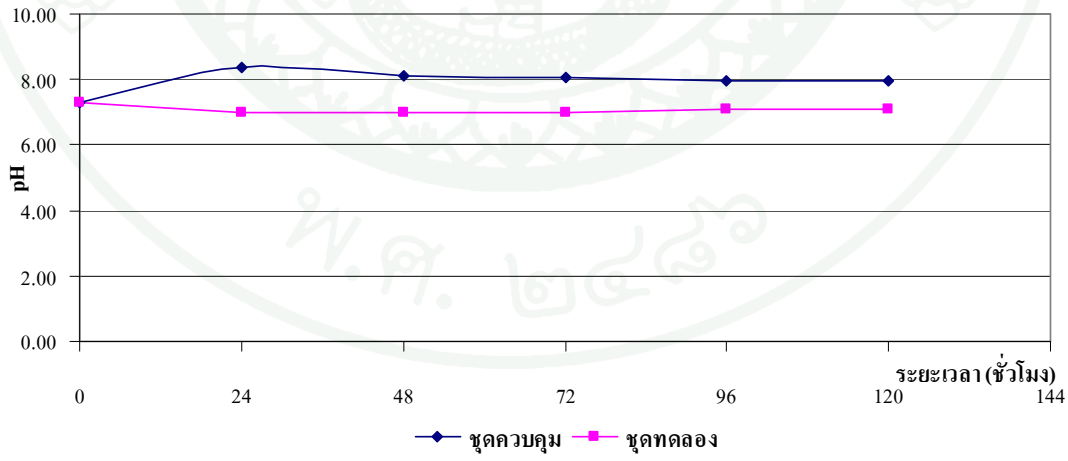
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ระดับความเค็ม 10 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่า pH ที่ 8.31±0.07, 8.07±0.04, 8.02±0.05, 7.95±0.08 และ 7.93±0.04 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า pH ที่ 6.91±0.06, 6.78±0.10, 6.81±0.06, 6.87±0.02 และ 6.89±0.02 ตามลำดับ ดังภาพที่ 46

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 46** ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 10 ppt

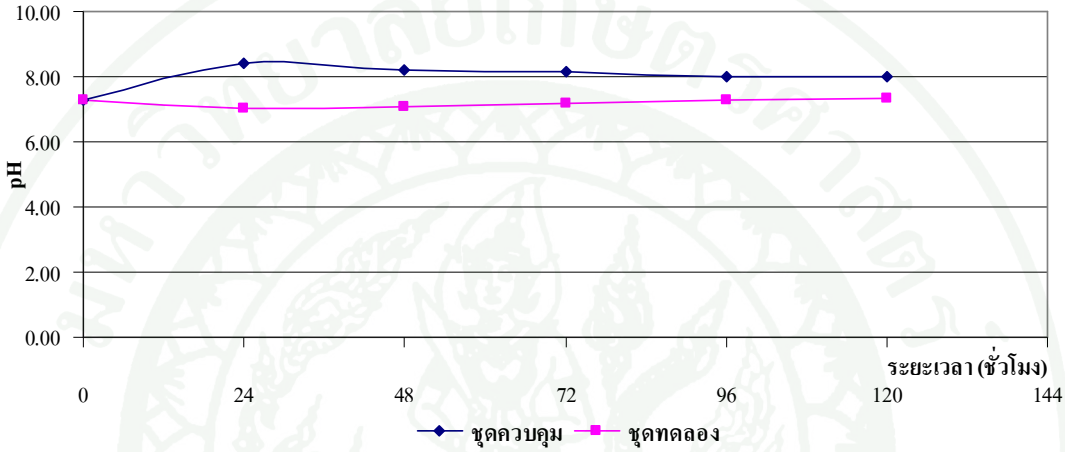
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ระดับความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่า pH ที่ 8.39±0.04, 8.13±0.09, 8.06±0.06, 7.95±0.08 และ 7.97±0.04 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า pH ที่ 6.99±0.07, 6.98±0.05, 6.98±0.18, 7.07±0.22 และ 7.08±0.21 ตามลำดับ ดังภาพที่ 47




**ภาพที่ 47** ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 20 ppt

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

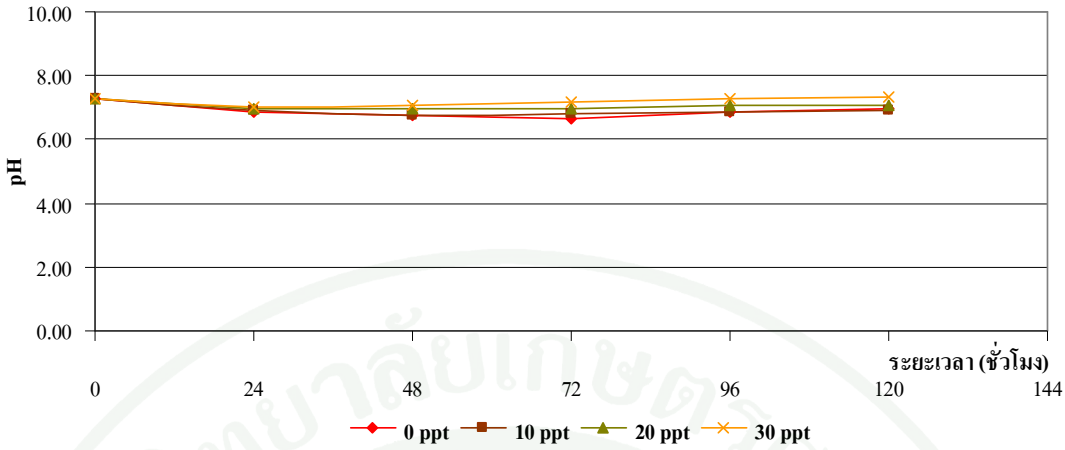
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ระดับความเค็ม 30 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่า pH ที่ 8.39±0.03, 8.21±0.10, 8.13±0.11, 8.00±0.15 และ 7.98±0.06 ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า pH ที่ 7.00±0.07, 7.07±0.05, 7.19±0.04, 7.26±0.03 และ 7.33±0.04 ตามลำดับ ดังภาพที่ 48




**ภาพที่ 48** ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับความเค็ม 30 ppt

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ของชุดทดลองพบว่าค่า pH มีแนวโน้มลดลงในช่วงแรกของการทดลองและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของการทดลอง โดยระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt มีค่า pH เฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 6.90±0.22, 6.93±0.19, 7.07±0.12 และ 7.19±0.13 ตามลำดับ ซึ่งระดับความเค็ม 0 ppt มีค่า pH ลดต่ำสุด ดังภาพที่ 49

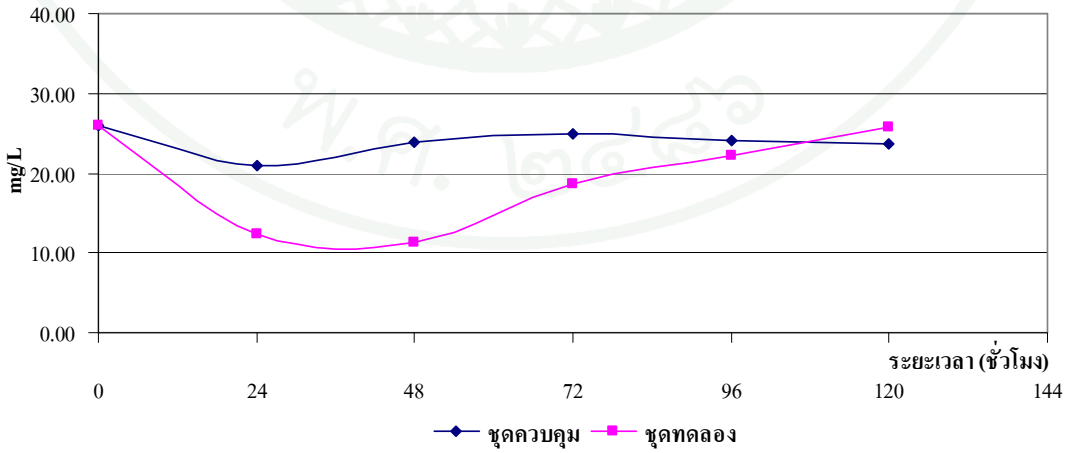
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 49** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

2. ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม

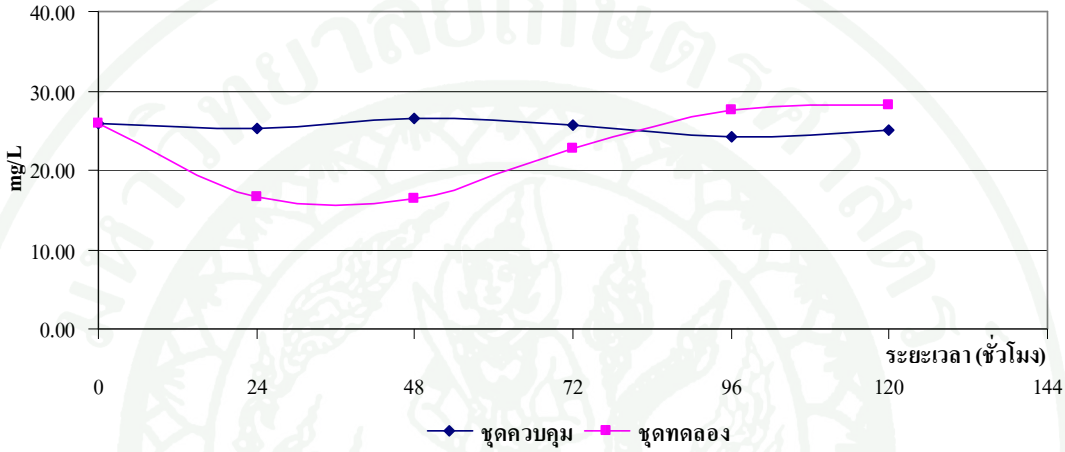
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 0 ppt พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย 20.91±1.09, 23.78±2.43 และ 24.90±2.95 mg/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ย 12.45±0.35, 11.36±0.65 และ 18.59±0.91 mg/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 50




**ภาพที่ 50** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 0 ppt

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

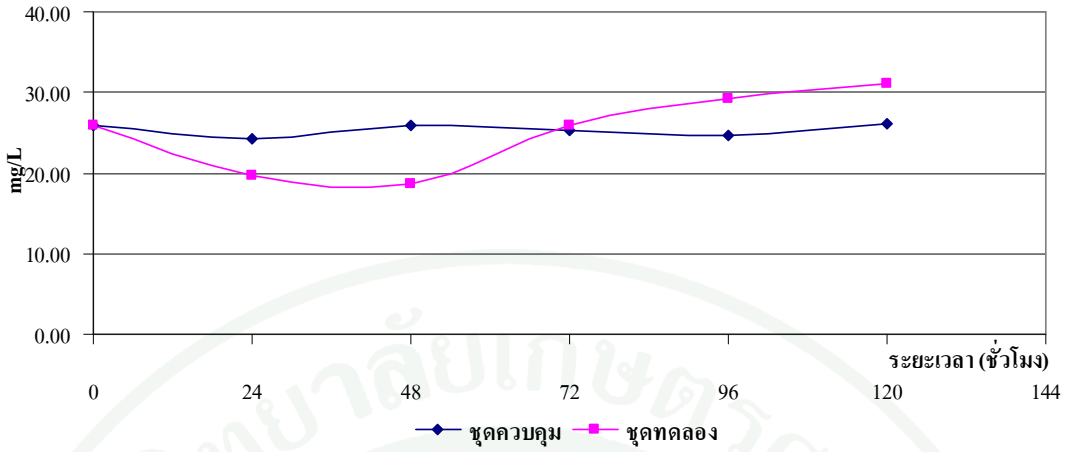
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 10 ppt พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 25.33±3.62, 26.52±3.57 และ 24.96±2.78 mg/L ตามลำดับ ซึ่งชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 16.64±1.31, 16.40±0.71 และ 28.22±0.46 mg/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 51




**ภาพที่ 51** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 10 ppt

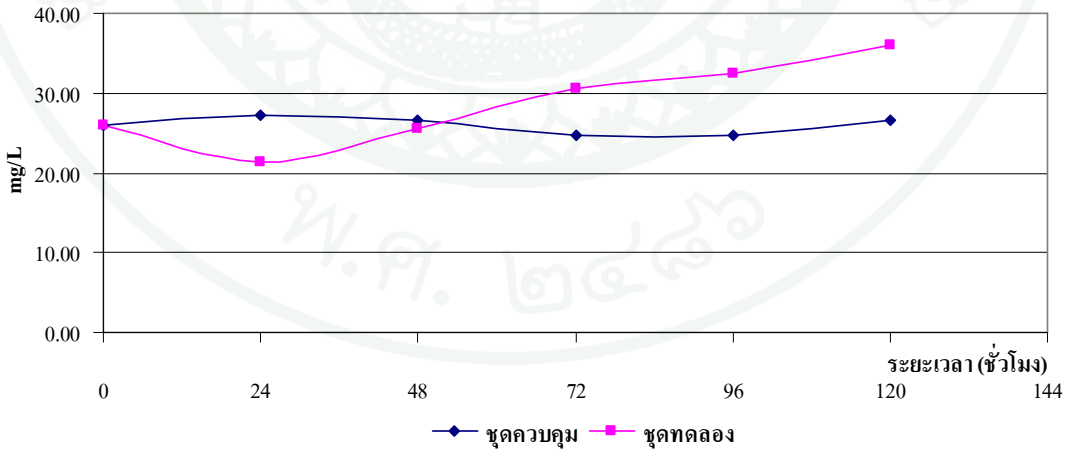
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 20 ppt พบว่าที่ระยะเวลา 24, 48, 96 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 24.29±3.59, 25.92±3.41, 24.74±2.28 และ 26.15±0.72 mg/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 19.63±0.61, 18.69±1.16, 29.14±1.16 และ 31.07±0.33 mg/L ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 52

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 52** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 20 ppt

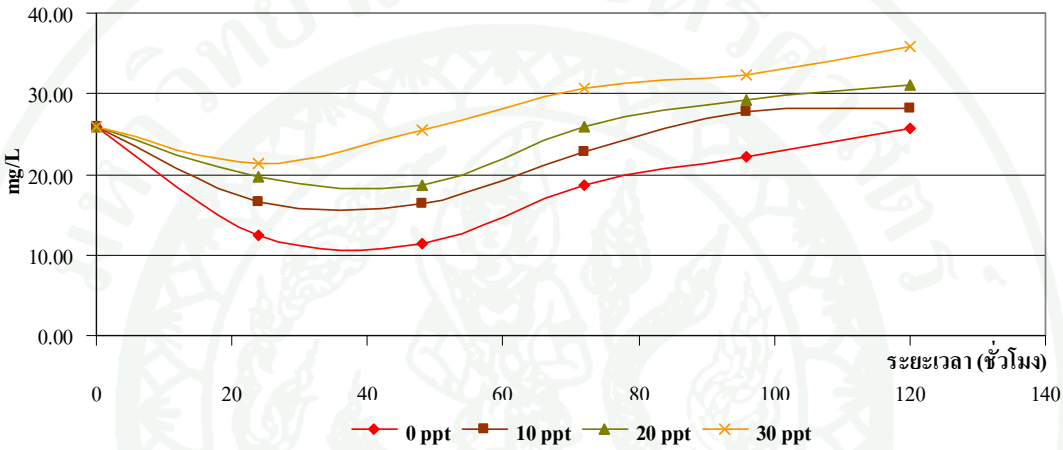
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 30 ppt พบว่าที่ระยะเวลา 24, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 27.27±1.11, 24.81±0.69, 24.79±0.48 และ 26.50±0.29 mg/L ตามลำดับ และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 21.27±1.20, 30.59±1.14, 32.42±0.95 และ 35.92±1.75 mg/L ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 53




**ภาพที่ 53** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 30 ppt

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ของชุดทดลองพบว่ามีแนวโน้มลดต่ำลงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง จนสิ้นสุดการทดลอง โดยที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt โดยมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเฉลี่ย ดังนี้ 19.39±6.41, 22.96±5.33, 25.08±4.99 และ 28.62±5.33 mg/L ตามลำดับ ซึ่งระดับความเค็ม 0 ppt มีค่าแอมโมเนียรวมต่ำสุด ดังภาพที่ 54

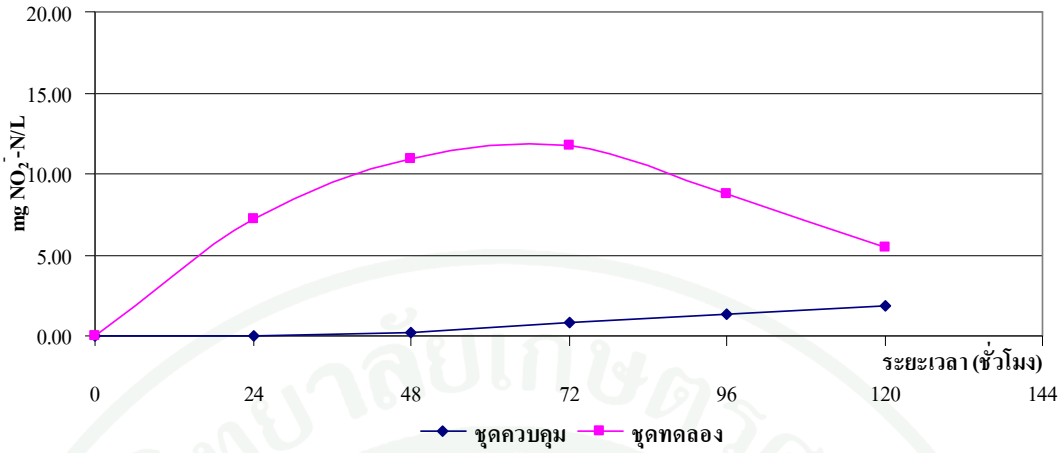



**ภาพที่ 54** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

3. ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจน

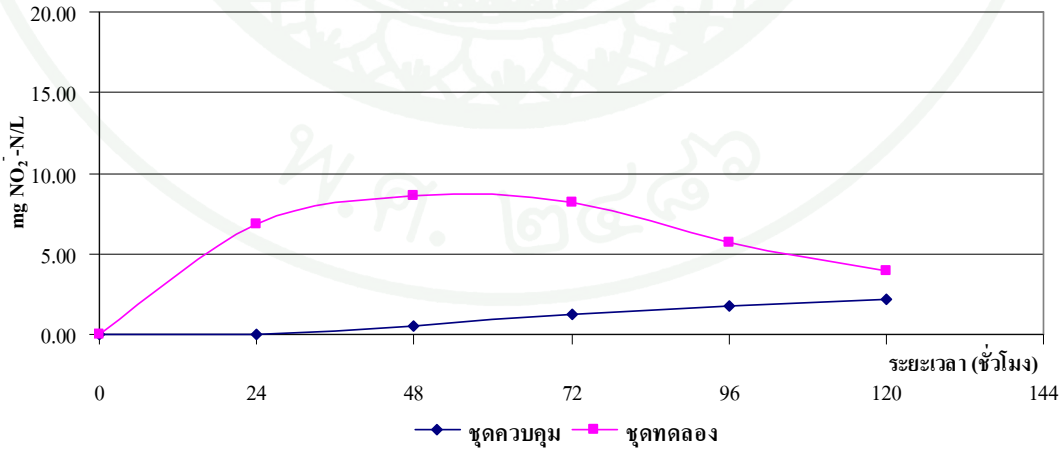
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 0 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์น้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 0±0.00, 0.21±0.21, 0.82±0.29, 1.35±0.43 และ1.82±0.64 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 7.21±0.30, 10.94±1.01, 11.79±1.11, 8.80±1.75 และ 5.44±0.58 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 55

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 55** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 0 ppt

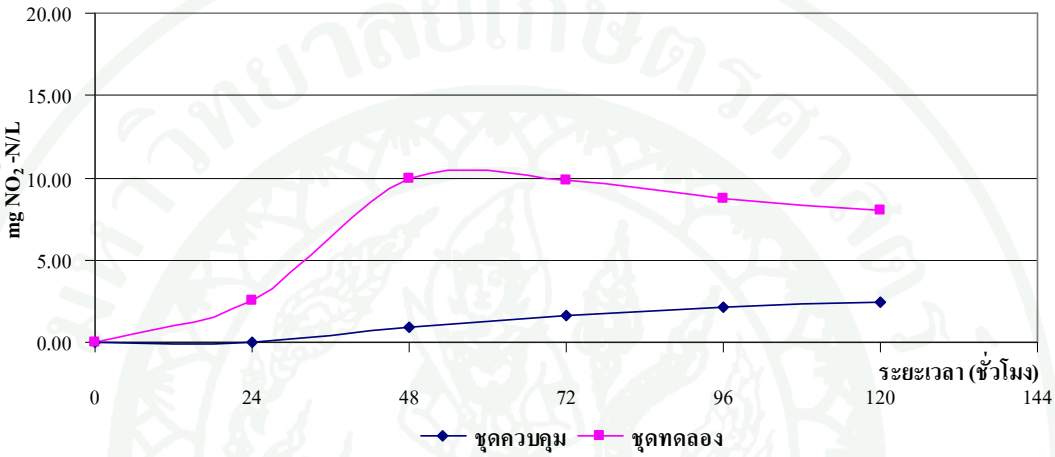
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 10 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์น้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 0.00±0.00, 0.51±0.37, 1.26±0.58 และ 1.75±0.93 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 6.88±0.66, 8.56±0.51, 8.23±1.64 และ 5.75±1.48 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 56




**ภาพที่ 56** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 10 ppt

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

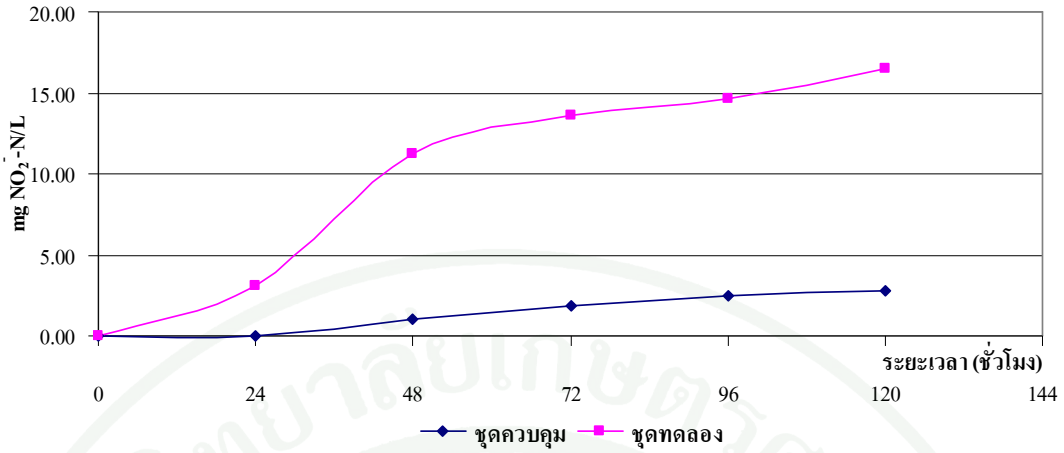
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์น้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 0.00±0.00, 0.91±0.45, 1.66±0.34, 2.17±0.88 และ 2.49±1.15 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 2.56±1.39, 9.95±3.98, 9.88±2.66, 8.73±2.34 และ 8.00±3.24 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 57




**ภาพที่ 57** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 20 ppt

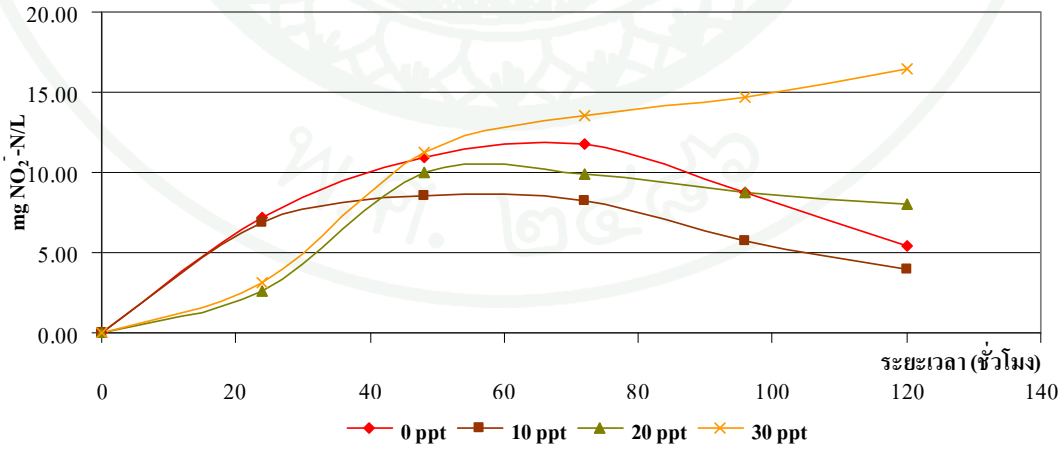
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 30 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์น้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยที่ 0.00±0.00, 1.02±0.40, 1.89±0.84, 2.52±0.71 และ 2.81±1.05 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 3.11±3.14, 11.28±5.17, 13.59±4.13, 14.66±2.22 และ 16.48±1.76 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 58** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 30 ppt

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเค็ม 0, 10 และ 20 ppt ค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลองและมีแนวโน้มลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง ส่วนที่ระดับความเค็ม 30 ppt พบว่าค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง โดยชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยที่ 7.36±4.30, 5.56±3.21, 6.52±4.20 และ 9.85±6.72 mg $NO_2^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 59

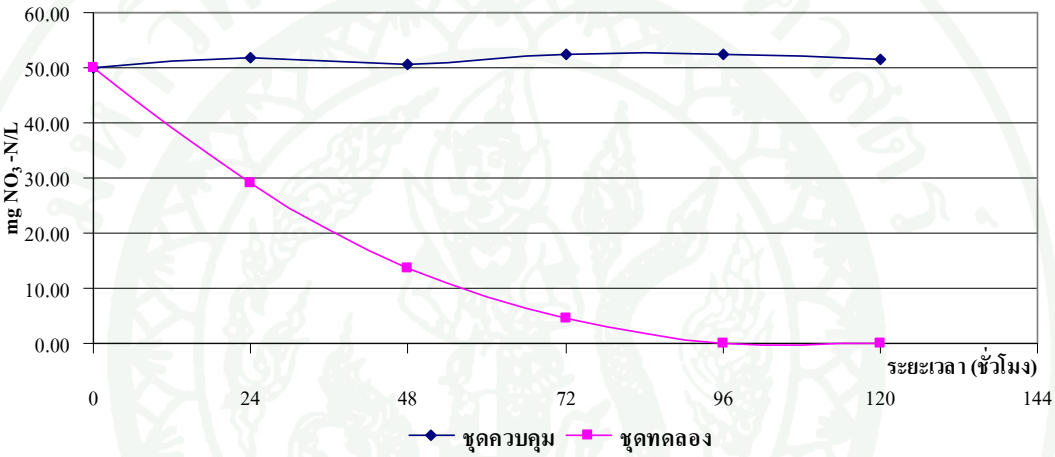



**ภาพที่ 59** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน

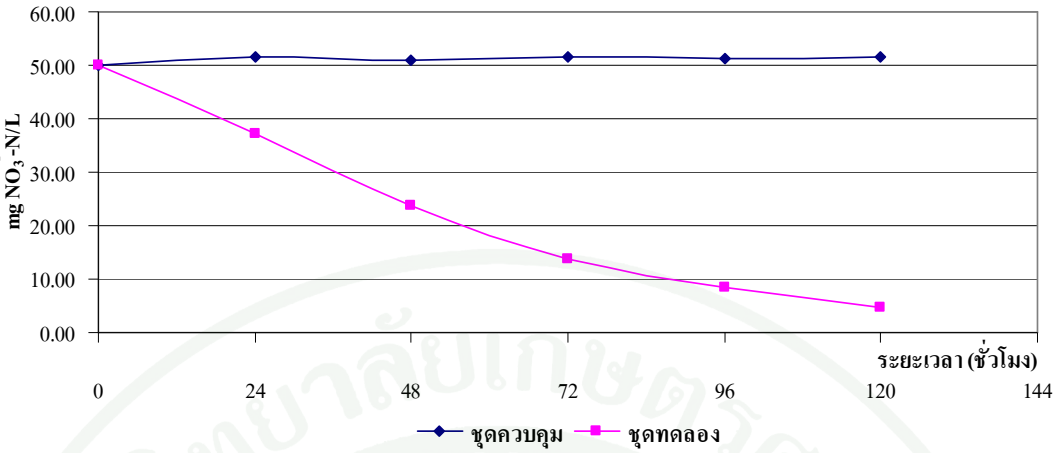
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ระดับความเค็ม 0 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่า 51.79±0.36, 50.68±0.53, 52.48±1.04, 52.38±0.94 และ 51.65±0.62 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า 29.21±2.80, 13.56±4.47, 4.58±3.97, 0.00±0.00 และ 0.00±0.00 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 60




**ภาพที่ 60** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 0 ppt

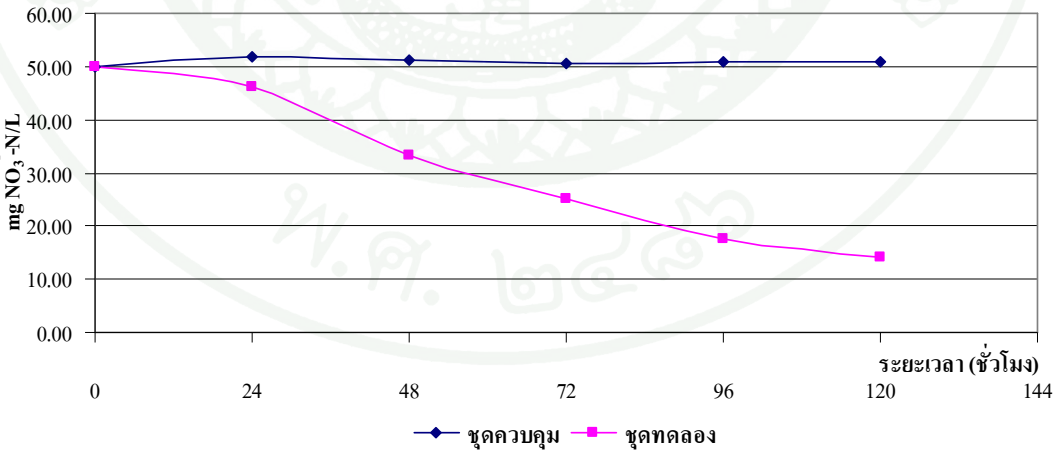
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ระดับความเค็ม 10 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่า 51.66±0.48, 50.84±0.82, 51.53±0.97, 51.38±0.98 และ 51.59±0.46 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า 37.07±3.56, 23.73±6.04, 13.71±3.34, 8.45±3.74 และ 4.81±2.01 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 61** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 10 ppt

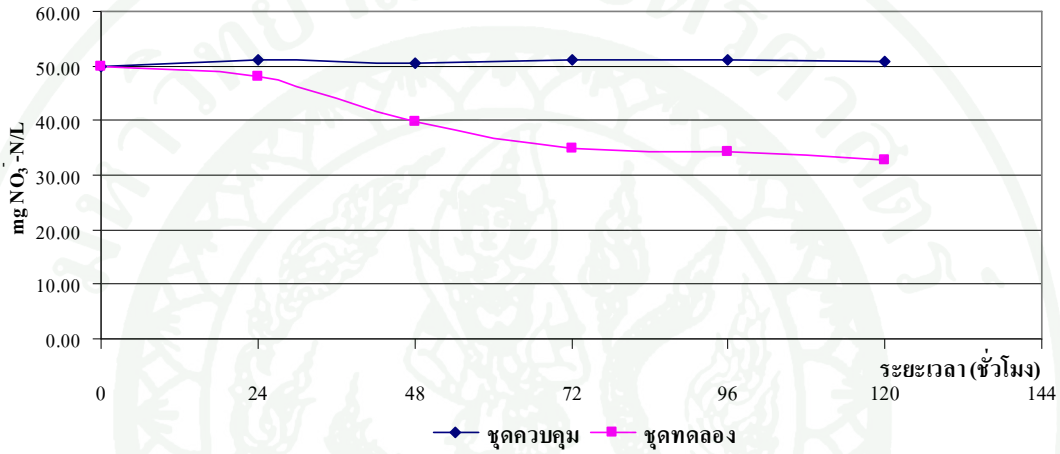
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ระดับความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่า 51.90±0.48, 51.28±0.61, 50.58±0.52, 50.99±0.39 และ 50.77±0.98 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า 46.06±3.97, 33.44±2.18, 25.22±1.13, 17.70±0.83 และ 14.18±2.15 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 62




**ภาพที่ 62** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 20 ppt

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

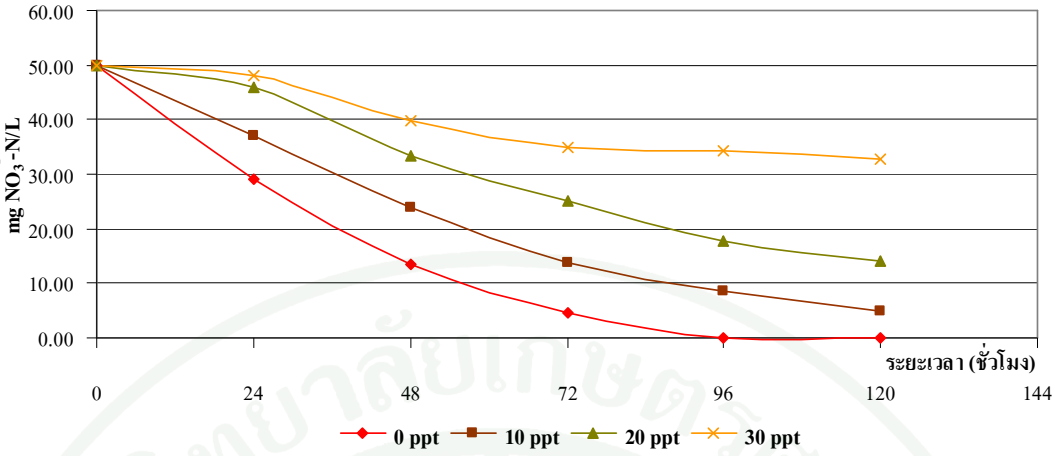
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ระดับความเค็ม 30 ppt ที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ยมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่า 50.53±0.54, 50.98±0.83, 51.22±0.36 และ 50.90±0.31 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่า 39.87±3.08, 34.84±3.02, 34.23±3.57 และ 32.61±2.67 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังภาพที่ 63




**ภาพที่ 63** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนที่ระดับความเค็ม 30 ppt

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทของชุดทดลองที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt พบว่าที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ระดับความเค็ม 0 ppt มีค่า 13.56±4.47, 4.58±3.97, 0.00±0.00 และ 0.00±0.00 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ และที่ระดับความเค็ม 10 ppt มีค่า 23.73±6.04, 13.71±3.34, 8.45±3.74 และ 4.81±2.01 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ และที่ระดับความเค็ม 20 ppt มีค่า 33.44±2.18, 25.22±1.13, 17.70±0.83 และ 14.18±2.15 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเค็ม 30 ppt มีค่า 39.87±3.08, 34.84±3.02, 34.23±3.57 และ 32.61±2.67 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 64

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 64** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนของชุดทดลองที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

5. ค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt ในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* พบว่าในทุกระดับความเค็มไม่ปรากฏค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์

**การทดลองที่ 4 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ**

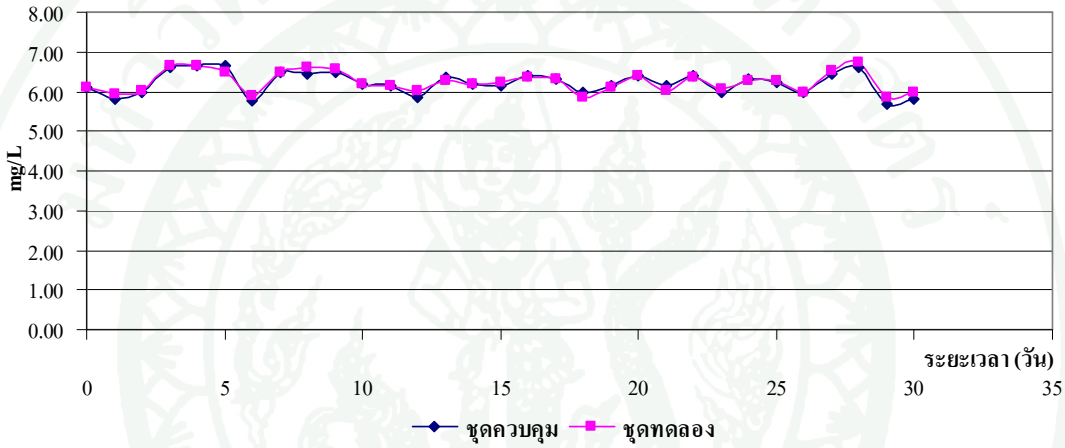
ทดลองเลี้ยงปลาคาร์พภายในตู้ปลาขนาด 30×50×30 เซนติเมตร ที่อัตราปล่อย 10 ตัว/ตู้ เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดควบคุม (คอลัมน์บำบัดไนเตรท) และชุดทดลอง (คอลัมน์บำบัดไนเตรทผสมแบคทีเรีย *T. denitrificans*) โดยตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ และอัตราการเจริญเติบโตของปลาคาร์พที่ระยะเวลาต่าง ๆ ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**1. คุณภาพน้ำ**

1.1 ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO)

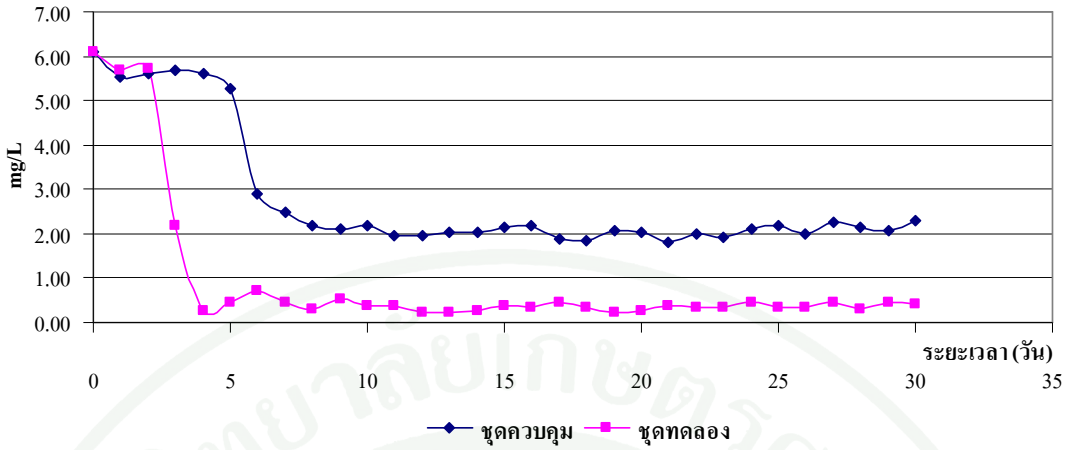
ผลการศึกษาค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในตู้เลี้ยงปลาคาร์พของชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยตลอดการทดลองชุดควบคุมมีค่า DO เฉลี่ยที่ 6.21±0.27 mg/L ส่วนชุดทดลองมีค่า DO เฉลี่ยที่ 6.24±0.25 mg/L ดังภาพที่ 65




**ภาพที่ 65** ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

ส่วนผลการศึกษาค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรทของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งชุดควบคุมมีค่า DO มากกว่าชุดทดลองตลอดการทดลอง โดยทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองต่างก็มีค่า DO ลดลงจากค่า DO เริ่มต้น ซึ่งตลอดการทดลองชุดควบคุมมีค่า DO เฉลี่ยที่ 2.79±1.43 mg/L ส่วนชุดทดลองมีค่า DO เฉลี่ยที่ 0.95±1.66 mg/L ดังภาพที่ 66

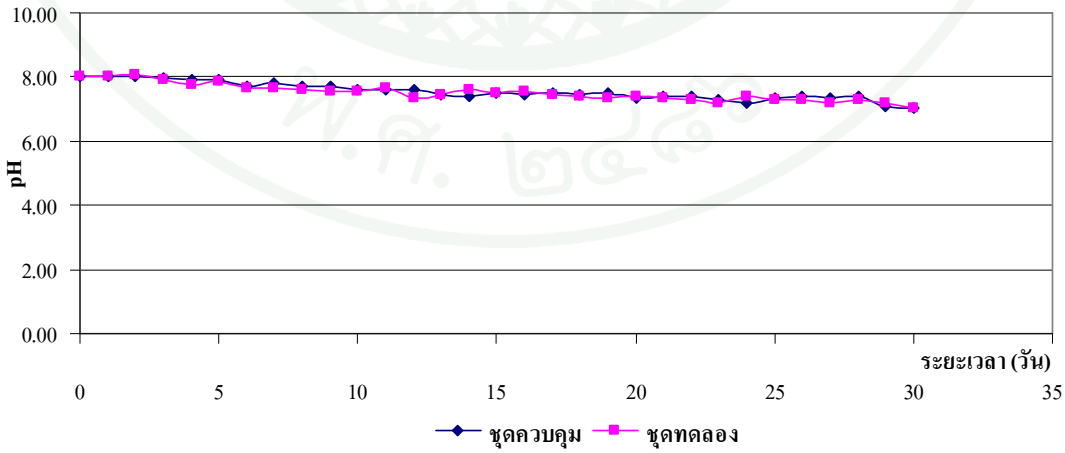
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 66** ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท

1.2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

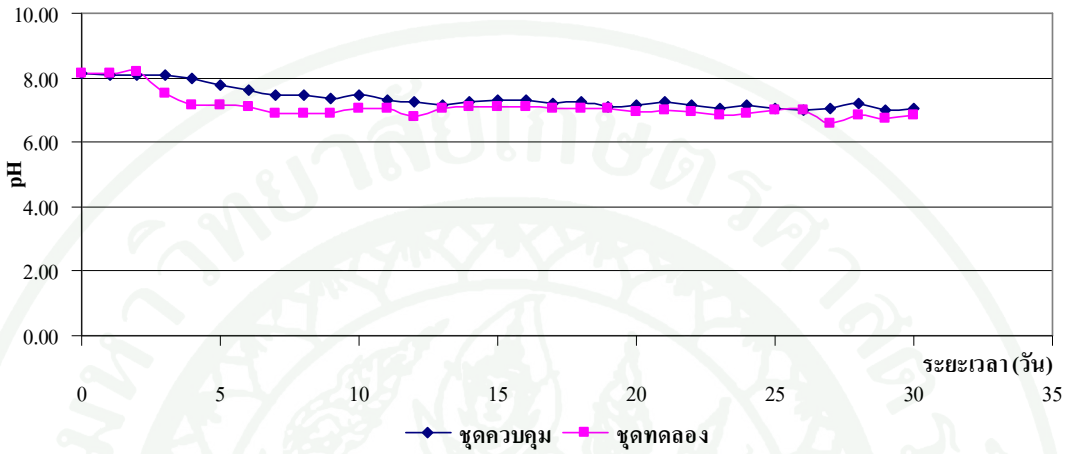
ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง แต่เมื่อพิจารณาจาก ภาพที่ 67 พบว่าค่า pH ทั้งของชุดควบคุมและชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง โดยตลอดการทดลองชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยที่ 7.55±0.27 ส่วนชุดทดลองมีค่า pH เฉลี่ยที่ 7.51±0.27




**ภาพที่ 67** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนผลการศึกษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท ของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าค่า pH มีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง โดยตลอดการทดลองชุดควบคุมมีค่า pH เฉลี่ยที่ 7.38±0.36 ส่วนชุดทดลองมีค่า pH เฉลี่ยที่ 7.09±0.39 ดังภาพที่ 68

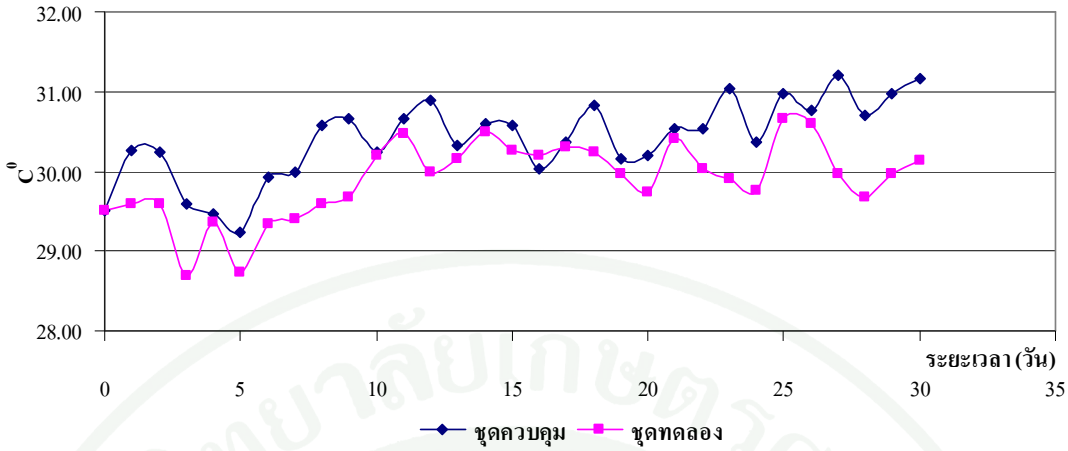



**ภาพที่ 68** ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท

1.3 อุณหภูมิ

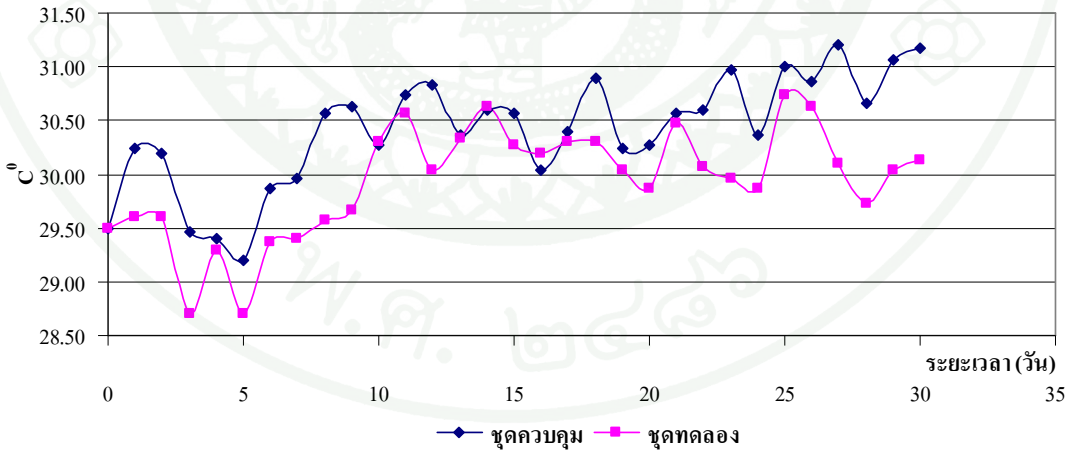
ผลการศึกษาอุณหภูมิภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดการทดลองโดยตลอดการทดลองชุดควบคุมมีอุณหภูมิเฉลี่ย 30.41±0.50 องศาเซลเซียส ซึ่งชุดทดลองมีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.89±0.41 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 69

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 69** อุณหภูมิภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

ส่วนผลการศึกษาอุณหภูมิจากคอลัมน์บำบัดไนเตรทของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง โดยตลอดการทดลองชุดควบคุมมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 30.41±0.52 องศาเซลเซียส ส่วนชุดทดลองมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 29.93±0.51 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 70

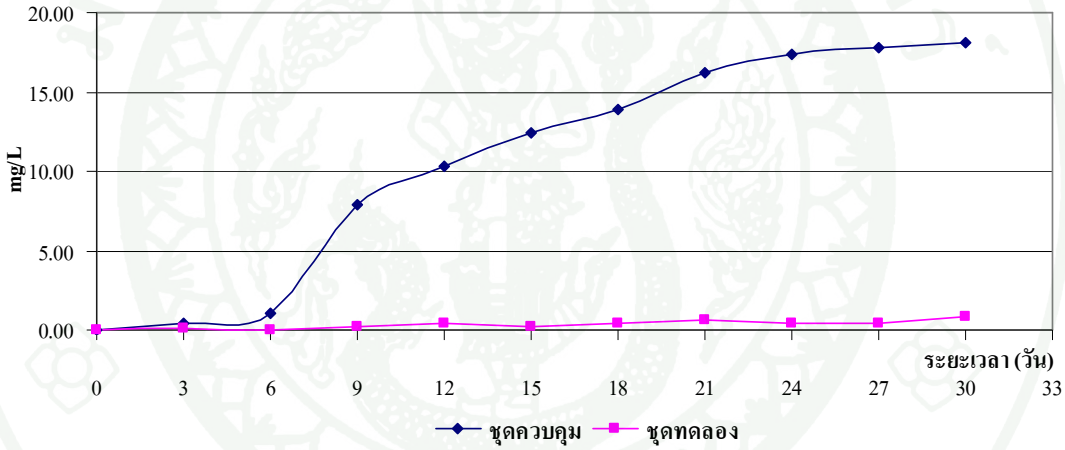



**ภาพที่ 70** อุณหภูมิจากคอลัมน์บำบัดไนเตรท

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในวันที่ 3 ของการทดลอง ทั้งของชุดควบคุมและชุดทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 0.40±0.35 และ 0.08±0.12 mg/L ตามลำดับ แต่เมื่อการทดลองถึงวันที่ 6 พบว่าชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมมากกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 1.04±0.03 และ 0.02±0.00 mg/L ตามลำดับ โดยชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง และมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเฉลี่ยตลอดการทดลองที่ 10.51±7.17 mg/L ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเฉลี่ยตลอดการทดลองที่ 0.34±0.26 mg/L ดังภาพที่ 71

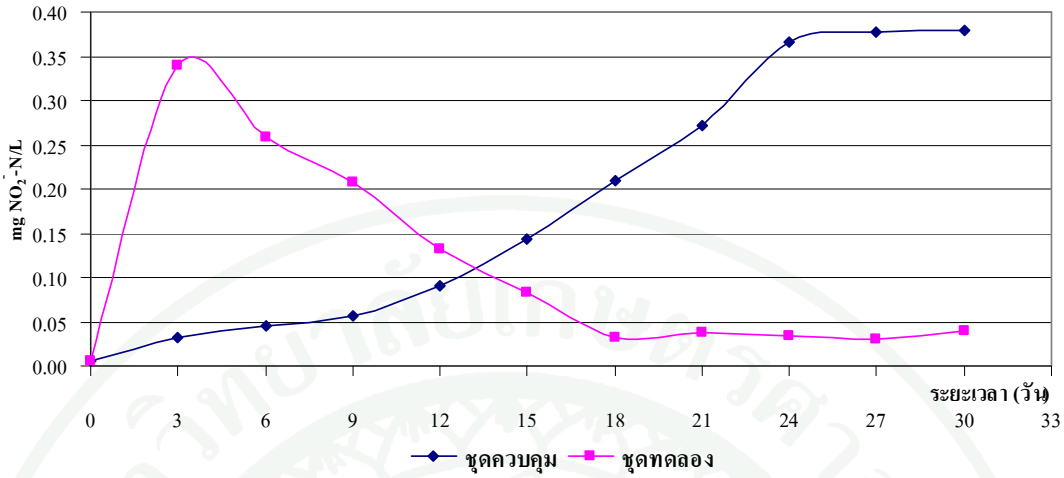



**ภาพที่ 71** ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

1.5 ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจน

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนไตรท์ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ ของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง และมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 0.38±0.02 mg $NO_2^-$-N/L ในวันที่ 30 ของการทดลอง ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยสูงสุด 0.34±0.03 mg $NO_2^-$-N/L ในวันที่ 3 ของการทดลอง หลังจากนั้นค่าความเข้มข้นไนไตรท์เฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงจนมีค่าเฉลี่ยคงที่ในวันที่ 18-30 ของการทดลอง ดังภาพที่ 72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

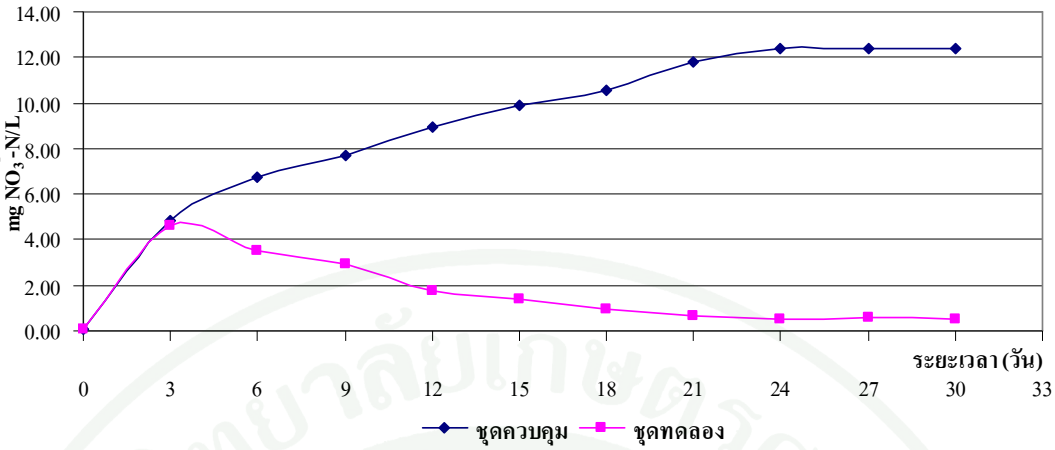



**ภาพที่ 72** ค่าความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

1.6 ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ ของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หลังจากวันที่ 3 ของการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าความเข้มข้นไนเตรทมากกว่าชุดทดลองตลอดการทดลอง ซึ่งชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง และมีค่าเฉลี่ยคงในวันที่ 24, 27 และ 30 ของการทดลอง โดยมีค่าที่ 12.36±0.09, 12.40±0.09 และ 12.40±0.06 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ ส่วนชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 3 ของการทดลอง และลดต่ำลงตลอดการทดลอง จนมีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ย 0.52±0.22 mg $NO_3^-$-N/L ในวันที่ 30 ของการทดลอง ดังภาพที่ 73

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 73** ค่าความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ

1.7 ค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์

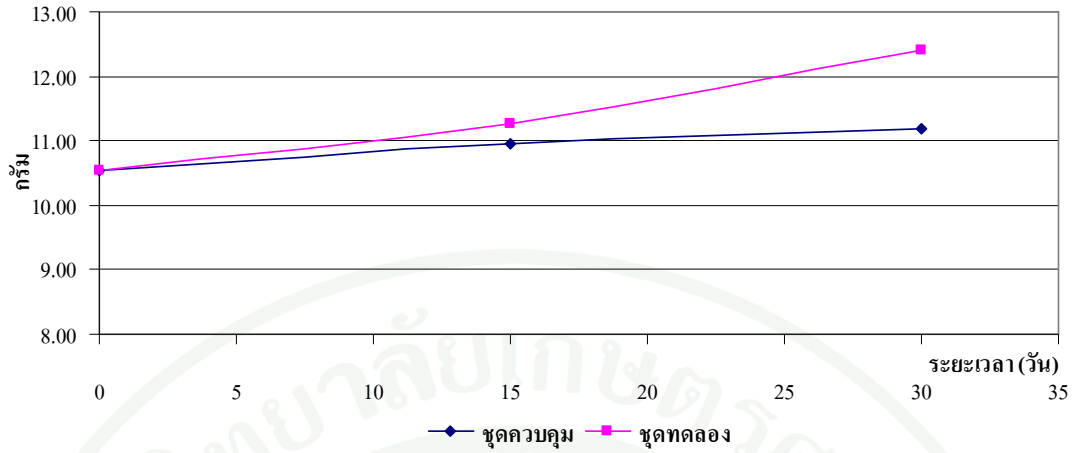
ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองการทดลองไม่ปรากฏค่าความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ตลอดการทดลอง

**2. อัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลาคาร์พ ดังนี้**

2.1 น้ำหนัก (Body weight)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของปลาคาร์พในส่วนของค่าน้ำหนัก พบว่า ชุดควบคุมมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่ 10.96±0.02 และ 11.19±0.09 กรัม ส่วนชุดทดลองมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่ 11.27±0.21 และ 12.41±0.37 กรัม ในวันที่ 15 และ 30 ของการทดลอง ตามลำดับ ดังภาพที่ 74

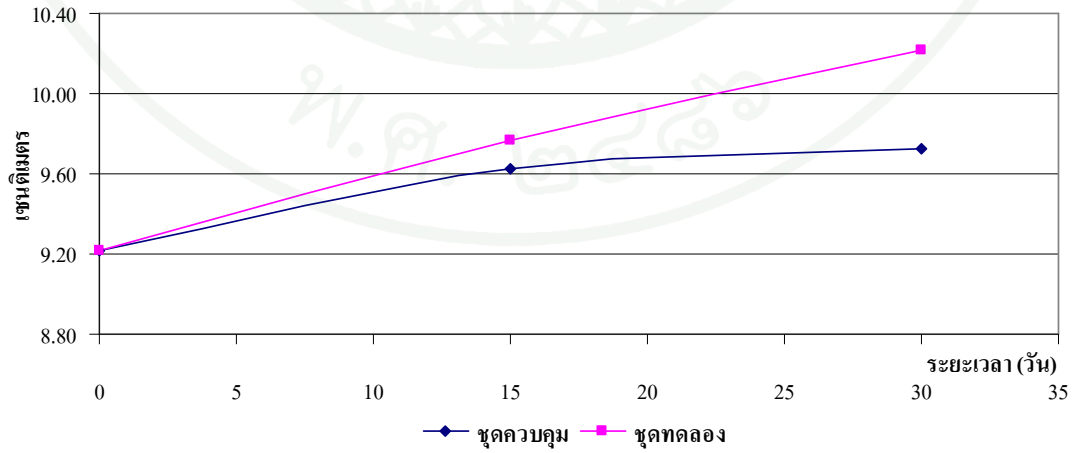
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 74** ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลาคาร์พ

2.2 ความยาวรวม (Total length)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของปลาคาร์พในส่วนของค่าความยาวรวม พบว่าชุดควบคุมมีค่าความยาวรวมเฉลี่ยน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีค่าความยาวรวมเฉลี่ยที่ 9.62±0.04 และ 9.73±0.03 เซนติเมตร และ ชุดทดลองมีค่าความยาวรวมเฉลี่ยที่ 9.76±0.02 และ 10.21±0.03 เซนติเมตร ในวันที่ 15 และ 30 ของการทดลอง ตามลำดับ ดังภาพที่ 75




**ภาพที่ 75** ค่าความยาวรวมเฉลี่ยของปลาคาร์พ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดของปลาคาร์พ พบว่าชุดควบคุมมีอัตราการรอดน้อยกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีอัตราการรอดที่ 93 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## วิจารณ์

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *Thiobacillis denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน คือ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 พบว่าอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน ที่เหมาะสมในการบำบัดไนเตรทสูงสุด คือ 1:1 รองลงมา คือ อัตราส่วน 2:1, 3:1, 0:4, 1:3, 1:2 และ 4:0 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Moon *et al.* (2006) ได้รายงานอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทสูงสุด แต่แตกต่างจากผลการศึกษาของ Koenig and Liu (1996) ที่พบว่าอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:0 หรือ การใช้กำมะถันเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทสูงสุด เนื่องจากกำมะถันเป็นแหล่งอาหาร และพลังงานของแบคทีเรีย *T. denitrificans* และจากการทดลองนี้ทำในระบบเปิดจึงไม่ต้องคำนึงถึงค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ภายในระบบบำบัด ดังสมการ

$$55S + 20CO_2 + 50NO_3^- + 38H_2O + 4NH_4^+ \xrightarrow{T.\ denitrificans} 4C_5H_7O_2N + 25N_2 + 55SO_4^{2-} + 64H^+$$

ซึ่งจากสมการข้างต้นจะได้ไฮโดรเจนอิออนส่งผลให้เกิดสภาวะที่เป็นกรด จึงต้องมีการศึกษาอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูนเพื่อรักษาค่า pH ให้เหมาะสมกับการเลี้ยงสัตว์น้ำ และการเจริญเติบโตของแบคทีเรียซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า pH ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 พบว่ามีค่า pH เฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังนี้ 7.06±0.06, 6.98±0.08, 6.90±0.12, 6.82±0.14, 6.69±0.18, 6.61±0.17 และ 5.73±0.14 ตามลำดับ ซึ่งจากค่า pH เฉลี่ย พบว่าที่อัตราส่วน 0:4, 1:3, 1:2 และ 1:1 มีค่า pH เฉลี่ยอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำระหว่าง 6.7-8.2 (โชคชัย, 2548) และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ระหว่าง 6.8-8.2 (Koening and Liu, 2001) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกำมะถันพบว่าอัตราส่วน 1:1 มีปริมาณกำมะถันสูงสุด ดังนั้นอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน เท่ากับ 1:1 จึงมีความเหมาะสมในการบำบัดไนเตรทสูงสุด ส่วนค่าความเข้มข้นไนไตรท์พบว่าทุกอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน มีค่าความเข้มข้นไนไตรท์เพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง และลดต่ำลงในช่วงท้ายของการทดลอง ซึ่งน่าจะอยู่ในช่วงการปรับตัวของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ส่งผลให้กระบวนการ Autotrophic denitrification เกิดอย่างไม่สมบูรณ์ จึงเกิดการสะสมของไนไตรท์ ดังสมการ

$$NO_3^- + 2e^- + 2H \longrightarrow NO_2^- + H_2O$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมพบว่าทุกอัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน มีค่าลดต่ำลงในช่วงแรกของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับสมการของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่สามารถใช้แอมโมเนียมเป็นองค์ประกอบของกระบวนการ Autotrophic denitrification แต่ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมกลับเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของการทดลอง ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณไนเตรทภายในหลอดทดลองลดต่ำลง ส่งผลให้แบคทีเรียบางส่วนเกิดการตาย และย่อยสลายผ่านกระบวนการ Ammonification ส่งผลให้ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมกลับเพิ่มสูงขึ้น ดังสมการ

โปรตีน $\xrightarrow{\text{Proteolysis}}$ กรดอะมิโน $\xrightarrow{\text{Deamination}}$ แอมโมเนียม

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน พบว่าค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* เท่ากับ 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* แตกต่างกันตามค่า OD ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยค่า OD ที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทที่เพิ่มขึ้น

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน จากผลการศึกษาค่าความเข้มข้นไนเตรทที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 ppt พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าความเข้มข้นไนเตรทเฉลี่ย 0±0.00, 8.45±3.74, 17.70±0.83 และ 32.61±2.67 mg $NO_3^-$-N/L ตามลำดับ จากค่าความเข้มข้นไนเตรทเริ่มต้น 50 mg $NO_3^-$-N/L โดยระดับความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ลดลง ซึ่งจากผลการศึกษาของ Claus and Kutzner (1985) กล่าวว่า ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* จะลดต่ำลงเมื่อระดับความเค็มมากกว่า 20 ppt เนื่องจากสารประกอบ Sodium chloride มีผลต่อค่า Osmotic pressure ของเซลล์แบคทีเรีย *T. denitrificans* โดยอาจเกิดสภาวะ Hypertonic มีผลให้เซลล์แบคทีเรียเกิดการเหี่ยว เพราะว่าประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทลดต่ำลงตามระดับความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้น ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) พบว่ามีค่าลดต่ำลงตามประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรท ในส่วนของค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง ซึ่งน่าจะอยู่ในช่วงการปรับตัวของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ส่งผลให้กระบวนการ Denitrification เกิดอย่างไม่สมบูรณ์จึงเกิดการสะสมไนเตรท์ขึ้นภายในหลอดทดลอง สำหรับค่าแอมโมเนียรวมมีค่าลดต่ำลงในช่วงแรกของการทดลองซึ่งสอดคล้องกับสมการของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่สามารถใช้แอมโมเนียมเป็นองค์ประกอบของกระบวนการ Autotrophic Denitrification แต่ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมกลับเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้าย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของการทดลอง ซึ่งอาจเกิดจากระดับความเค็มที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้แบคทีเรียบางส่วนเกิดการตาย และเกิดการย่อยสลายผ่านกระบวนการ Ammonification ส่งผลให้ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมกลับเพิ่มสูงขึ้น

ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำภายในตู้ปลาทดลองทั้งของชุดควบคุมและชุดทดลอง ในส่วนของค่าความเข้มข้นออกซิเจนละลายน้ำ (DO) และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) พบว่าทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่า DO และ pH อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ โดยมีค่า DO มากกว่า 5 mg/L และมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.7-8.2 (โชคชัย, 2548)

สำหรับค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และไนเตรทของชุดควบคุมมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับกระบวนการ Ammonification ในการย่อยสลายเศษอาหารและสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำจึงส่งผลให้เกิดแอมโมเนียมในระบบการเลี้ยง จากนั้นจึงอาศัยกระบวนการ Nitrification ในการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรท์ และเปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนเตรท ดังสมการ

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \longrightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O + \text{พลังงาน}$$

$$NO_2^- + 0.5O_2 \longrightarrow NO_3^- + \text{พลังงาน}$$

ซึ่งในการทดลองเป็นการเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบปิดแบบน้ำหมุนเวียน และมีการให้อาหารตลอดเวลา ดังนั้นค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และไนเตรท ของชุดควบคุมจึงมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง

แต่สำหรับชุดทดลองมีค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมน้อยกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรีย *T. denitrificans* สามารถใช้แอมโมเนียมเป็นองค์ประกอบ ในการเกิดกระบวนการ Autotrophic denitrification ส่วนค่าความเข้มข้นไนไตรท์ และไนเตรทมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง และมีค่าลดต่ำลงหลังจากวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และไนเตรท จะเห็นว่าค่าความเข้มข้นไนไตรท์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นใน 3 วันแรกของการทดลอง ซึ่งอาจอยู่ในช่วงการปรับตัวของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ส่งผลให้กระบวนการ Autotrophic denitrification เกิดอย่างไม่สมบูรณ์ หรือ เกิดจากกระบวนการ Nitrification ในการเปลี่ยนแอมโมเนียมเป็นไนไตรท์ แต่หลังจากวันที่ 3 ของการทดลอง พบว่าค่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความเข้มข้นไนไตรท์ และไนเตรท มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ ตลอดการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *T. denitrification* ต้องใช้ระยะเวลาในการปรับตัวประมาณ 3 วัน ก่อนที่จะมีประสิทธิภาพอย่างเต็มที่ ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท พบว่าชุดควบคุมมีค่ามากกว่าชุดทดลอง โดยมีค่า DO เริ่มลดต่ำลงในวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งแบคทีเรีย *T. denitrificans* จะมีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทสูงขึ้นเมื่อค่า DO ลดต่ำลง ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) พบว่าชุดทดลองมีแนวโน้มของค่าpH ที่น้อยกว่าชุดควบคุมเนื่องจากกระบวนการ Autotrophic denitrification ของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ก่อให้เกิดสภาวะที่เป็นกรด

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาคาร์พทั้งค่าน้ำหนักเฉลี่ย ค่าความยาวรวมเฉลี่ย และอัตรารอดของชุดควบคุมน้อยกว่าชุดทดลอง โดยค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลต่อความสามารถในการขับถ่ายแอมโมเนียของสัตว์น้ำที่ลดต่ำลง ทำให้ระดับแอมโมเนียในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของเลือดเพิ่มสูงขึ้น จึงส่งผลกระทบต่อปฏิกิริยาชีวเคมีต่าง ๆ และความคงสภาพของเนื้อเยื่อ และทำอันตรายต่อเหงือกของสัตว์น้ำมีผลให้ลดความสามารถของเลือดในการลำเลียงออกซิเจนและเสียชีวิตในที่สุด (สังวาลย์ และ อังสนา, 2549) ส่วนไนไตรท์จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด และทำปฏิกิริยากับเฟอรัสอิออน ($Fe^{2+}$) ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของออกซีฮีโมโกลบิน (Oxyhaemoglobin, $HbO_2$) และเกิดการเปลี่ยนเป็นเฟอริกอิออน ($Fe^{3+}$) ทำให้เกิดเมธีโมโกลบิน (Methaemoglobin) ส่งผลให้ความสามารถในการลำเลียงออกซิเจนลดลงจึงเป็นสาเหตุของโรคเลือดสีน้ำตาล (Brown blood disease) สำหรับไนเตรทนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ด้วยแบคทีเรียภายในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ และจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งจะให้ความเป็นพิษเช่นเดียวกับไนไตรท์ (Environment Canada, 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สรุปและข้อเสนอแนะ

## สรุป

1. การศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน 7 สัดส่วน คือ 0:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:0 พบว่าอัตราส่วน 1:1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่เหมาะสมทั้งต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *T. denitrificans*

2. การศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* เมื่อปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน โดยมีค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ตั้งแต่ 0.0-1.0 พบว่าค่า OD เท่ากับ 1.0 มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับค่า OD ที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. การศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 ppt พบว่าระดับความเค็ม 0 ppt มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเค็มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทจะลดต่ำลงเมื่อระดับความเค็มเพิ่มสูงขึ้น

4. การศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *T. denitrificans* มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรทภายในตู้เลี้ยงสัตว์น้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของปลาคาร์พในชุดทดลองมีค่ามากว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาอัตราการไหล และระยะเวลากักเก็บน้ำภายในคอลัมน์บำบัดไนเตรทเพิ่มเติมนอกเหนือจากอัตราการไหลที่ 1 ลิตรต่อชั่วโมง และระยะเวลากักเก็บน้ำ 0.30 ชั่วโมง

2. ควรมีการศึกษารูปแบบของคอลัมน์บำบัดไนเตรท เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดไนเตรท เช่น การเพิ่มความยาวของคอลัมน์บำบัดไนเตรทเพื่อเพิ่มระยะเวลาในการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans*

3. ควรมีการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ เพิ่มเติม โดยการปรับระดับความเค็มเพิ่มขึ้นทีละน้อย

4. ควรมีการทดลองในการเลี้ยงสัตว์น้ำระบบน้ำหมุนเวียน ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากการทดลองที่ผ่านมาเป็นการทดลองระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กิตติ เกษตรธรรม. 2535. **การกำจัดไนเตรทจากน้ำด้วยกระบวนการออโตโทรฟิก ดีไนตริฟิเคชัน ในถังกรองซัลเฟอร์-หินปูน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โชคชัย เหลืองธุวปราณีต. 2548. **หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ โฟร์เพซ, กรุงเทพฯ.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2545. **การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ.** ครั้งที่ 2. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ธัญญา พันธ์ฤทธิ์ดำ. 2541. **ระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดที่มีระบบดีไนตริฟิเคชันสำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธรรมรักษ์ ละอองนวล. 2541. **การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** คณะเกษตรและอุตสาหกรรม สถาบันราชภัฏอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.

พงศ์เชฏฐ์ พิชิตกุล. 2548. **เอกสารประกอบการสอน การวิเคราะห์น้ำ (Water Analysis) 251452.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2540. **คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.** ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ยนต์ มุสิก. ม.ป.ป.. **เอกสารประกอบการสอน Water Quality for Aquaculture.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วีรานุช หลาง. 2551. **จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม.** ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิฐู นันทิธัญญธาดา. 2546. **การกำจัดไนเตรทในตู้เลี้ยงปลาโดยกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริวัฒน์ คูเจริญไพบูลย์. 2544. **การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงปลาน้ำจืดระบบปิดโดยกระบวนการไนตริฟิเคชั่นและดีไนตริฟิเคชัน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2548. **จุลชีววิทยาของน้ำเสีย.** ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2552. **การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน : บทบาทของจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้.** ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งฬาจุลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ วังใน. 2528. **จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน.** ครั้งที่ 1. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

สุรัชดา ไชยชนะ. 2544. **การกำจัดไนเตรทโดยออโตโทรฟิกดีไนตริฟิเคชั่นในคอลัมน์กำมะถัน-หินปูน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวิมล ตันฑสุกิจวณิช. 2545. **ระบบบำบัดไนเตรทสำหรับระบบหมุนเวียนน้ำทะเลแบบปิดเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อำไพเทพิน สิงหะพันธุ. 2543. **ระบบบำบัดไนเตรทเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดขนาดเล็ก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรทัย ชวาลภาฤทธิ์. 2545. **คู่มือวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย.** ครั้งที่ 1. วิศวกรรมสถานแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. 2550. **เอกสารประกอบการสอน วจช 475 จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Aboutboul, Y., R. Arviv and J. Van Rijn. 1995. Anearobic treatment of intensive fish culture effluents : volatile fatty acid mediated denitrification. **Aquaculture** 133: 21-32.

Batchelor, B. and A.W. Lawrence. 1978. Autotrophic denitrification using elemental sulfur. **J Water Pollut Control** Fed 50: 1986-2001

Beller, H.R., P.S.G. Chain, T.E. Letain, A. Chakicherla, F.W. Larimer, P.M. Richardson, M. Coleman, A.P. Wood and D.P. Kelly. 2006. The genome sequence of the obligately chemolithoautotrophic, facultatively anaerobic bacterium *Thiobacillus denitrificans*. **J. Bacteriol.** 188: 1473-1488.

Berka, R., B. Kujal and J. Lavicky. 1981. Recirculating systems in Eastern European. *In* **Proceeding World Symposium on Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems vol. II,** 28-30 May 1980, Stavanger, Berlin

Camargo, J.A., A. Alonso and A. Salamanca. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. **Chemosphere** 58: 1255-1267.

Claus, G. and H.J. Kutzner. 1985. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. **Appl. Microbiol biot.** 22: 283-288.

Darbi, A., T. Viraraghavan, R. Butler and D. Corkal. 2003. Column studies on nitrate removal from potable water. **Water Air Soil Poll.** 150: 235-254.

de Kock, S. and Watt Ronnie. 2006. **Koi A handbook on keeping Nishikigoi.** New Holland Publishers Ltd, London.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Environment Canada. 2003. **Canadian Water Quality Quidelines for the Protection of Aquatic Life: Nitrate Ion. Ecosystem Health: Science-based Solutions Report No. 1-6. National Guidelines and Standards Office, Water Policy and Coordination Directorate, Environment Canada.** 115.

Flere, J.M. and T.C. Zhang. 1991. Nitrate removal with sulfur-limestone autotrophic denitrification process. **Environmental Engineering** 125: 721-729

Gerardi, M.H. 2002. **Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process.** John Wiley and Sons, Inc., New York.

Gutierrez-Wing, M.T. and R.F. Malone. 2006. Biological filters in aquaculture: Trends and research directions for freshwater and marine applications. **Aquacult. Eng.** 34: 163-171.

Hensyl, W.R. 1989. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 3.** Williams & Wilkins, United States of America.

Honda, H., Y. Watanaba, K. Kikuchi, N. Iwata, S. Takeda, H. Uemoto, T. Furata and M. Kiyono. 1993. High density rearing of Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus* with a closed seawater recirculation system equipped with a denitrification unit. **Suisanzoshoku** 41: 19-26

Hyrayama, K. 1966. Influences of nitrate accumulated in culturing water on Octopus vulgaris. Bull. Jpn. Soc. **Sci. Fish** 32: 105-111

Kamstra, A. and J.W. van der Heul. 1998. The effect of denitrification on feed intake and feed conversion of European eel *Anguilla Anguilla* L. pp., 128-129. *In* H**.** Grizel, P. Kestermont. (Eds.), Aquaculture and Water: Fish Culture, Shellfish Culture and Water Usage. **European Aquaculture Society Special Publication no. 26**, Oostende. Belgium.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Koenig, A. and L.H. Liu. 2001. Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packed-bed reactors. **Water Res.** 35: 1969-1978.

Koenig, A. and L.H. Liu. 2002. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. **Biotechnology** 99: 161-171.

Krishna, M. and L. Philip. 2005. *Thiobacillus denitrificans* immobilized biotrickling filter for $NO_2$ removal. **Clean Techn. Environ. Policy** 7: 285-293.

Meade, J.W. 1989. **Aquaculture Management.** Van Nostrand Reinhold, United States of America.

Moon, H.S., S.W. Chang, K. Nam, J. Choe and J.Y. Kim. 2006. Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. **Environ. Pollut.** 144: 802-807.

Muir, P.R., Sutton, D.C., Owens, L. 1991. Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoea. **Mar. Biol.** 108: 67-71.

Otte, G. and H. Rosenthal. 1979. Management of closed brackish-water system for high density fish Culture by biological and chemical water treatment. **Aquaculture** 18: 169-181.

van Rijn, J. 1996. The potential for intergrated biological treatment systems in recirculating fish culture-A review. **Aquaculture** 139: 181-201.

van Rijn, J., Y. Tal and H.J. Schreier. 2006. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. **Aquacult. Eng.** 34: 364-376.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zhang, T.C. and D.G. Lampe, D.G. 1999. Sulfur: limestone autotrophic denitrification processes for treatment of nitrate-contaminated water:batch experiments. **Water Research** 33: 599-608

Zweig, R.D., J.D. Morton and M.M. Stewart. 1999. **Source Water Quality for Aquaculture: A Guide for Assessment. Environmentally and Socially Sustainable Development**, The World Bank, Washington, D.C.. 76.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**1. การเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* (DSM 12475) ด้วยอาหารสูตร (832 THIOBACILLUS DENITRIFICANS II MEDIUM)**

สูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| $Na_2HPO_4$ | 1.20 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 1.80 | กรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.10 | กรัม |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.10 | กรัม |
| $CaCl_2$ | 0.03 | กรัม |
| $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ | 0.02 | กรัม |
| $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ | 0.02 | กรัม |
| $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ | 10.00 | กรัม |
| $NaHCO_3$ | 0.50 | กรัม |
| $KNO_3$ | 5.00 | กรัม |
| Agar | 15.00 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

ปรับค่า pH ของอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *Thiobacillus denitrificans* ให้อยู่ระหว่าง 6.8-7.0 ด้วย NaOH หรือ HCl

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ภาคผนวก ข**

การเตรียมสารเคมีและวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**1. วิธีวิเคราะห์แอมโมเนีย (Koroleff' s Indophenol Blue Method)**

**การเตรียมสารเคมี**

1. น้ำกลั่นแบบ Deionized distilled water

2. Sodium hydroxide 0.5 N

ละลาย NaOH จำนวน 20 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนีย 1 ลิตร เก็บในขวดพลาสติกปิดฝา

3. Magnesium sulphate solution

ละลาย 50 กรัม ของ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม NaOH 0.5 N จนเริ่มเกิดตะกอน และใส่ลูกปัดกันเดือดนำไปต้มไล่แอมโมเนีย จนปริมาตรเหลือน้อยกว่า 100 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วปิดฝา

4. Phenol reagent

ละลาย 38 กรัม ของ Phenol ($C_6H_5OH$) ตามด้วย 0.400 กรัม ของ Disodium nitroprusside dihydrate ($Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$) ในน้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนียแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร โดยสารละลายนี้อาจมีสีจาง ๆ และเก็บในตู้เย็นโดยใส่ในขวดแก้วสีชาปิดฝา

5. Sodium hypochlorite stock solution

ละลาย 0.50 กรัม ของ Potassium iodide (KI) หรือ Sodium iodide (NaI) ใน 50 มิลลิลิตร ของ Sulfuric acid ($H_2SO_4$) 1 N เติม Hypochlorite solution จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรทกับ Thiosulfate solution 0.1 N โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์จนถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นใสไม่มีสีซึ่ง Thiosulfate solution 1 มิลลิลิตร = Active chlorine 3.54 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. Hypochlorite reagent

นำ Sodium hypochlorite stock solution มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ หรือ 150 มิลลิกรัม Available chlorine/100 มิลลิลิตร ของ NaOH 0.5 N เก็บในตู้เย็นโดยใส่ในขวดแก้วฝาพลาสติก

7. Standard ammonia solution

ละลาย 0.3819 กรัม ของ $NH_4Cl$ (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น) ในน้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนีย แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วเก็บใส่ขวดแก้วโดยเก็บในตู้เย็น ซึ่งสารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้น 100 mg $NH_3$-N/L

**การเตรียมกราฟมาตรฐาน**

นำ Standard ammonia solution จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ 10 mg $NH_3$-N/L แล้วเตรียมสารละลายเพื่อทำกราฟมาตราฐาน ตามความเข้มข้นต่อไปนี้

**ตารางผนวกที่ ข1** การเตรียมกราฟมาตรฐานแอมโมเนีย

| **mg $NH_3$-N/L** | **จำนวนมิลลิลิตรของ 10 mg $NH_3$-N/L ที่ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร** |
|---|---|
| 0.00 | 0.00 |
| 0.10 | 1.00 |
| 0.20 | 2.00 |
| 0.30 | 3.00 |
| 0.40 | 4.00 |
| 0.50 | 5.00 |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**การวิเคราะห์**

นำน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ใน Flask ที่มีฝาปิดแล้วเติม Magnesium sulphate solution ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้

- สำหรับน้ำจืดเติม 1.0 มิลลิลิตร
- สำหรับน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 5-15 ppt เติม 0.8 มิลลิลิตร
- สำหรับน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 15-25 ppt เติม 0.5 มิลลิลิตร
- สำหรับน้ำที่มีความเค็มสูงกว่า 25 ppt ไม่ต้องเติม Magnesium sulphate solution

หลังจากนั้นเติม Phenol reagent จำนวน 1.5 มิลลิลิตรตามด้วย Hypochlorite reagen จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปิดฝาทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง หรือ ข้ามคืน และนำเฉพาะสารละลายส่วนใสชั้นบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

**2. วิธีวิเคราะห์ไนไตรท์ (Colorimetric Method)**

**การเตรียมสารเคมี**

1. น้ำกลั่นแบบ Deionized distilled water

2. Color reagent

น้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติม 85% Phosphoric acid ($H_3PO_4$) 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตามด้วย Sulfanilamide ($C_6H_8N_2O_2S$) 10 กรัม ผสมให้เข้ากันแล้วเติม *N*-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride ($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$) 1 กรัม ผสมให้เข้ากันจากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยเก็บสาร ละลายในขวดแก้วสีชา สารละลายจะอยู่ได้ประมาณ 1 เดือน เมื่อเก็บในตู้เย็น

3. Standard nitrite solution

ละลาย 0.4925 กรัม ของ $NaNO_2$ (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 60 นาที แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น) ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นโดยใส่ในขวดแก้วสีชาปิดฝา สารละลายนี้จะมีความเข้มข้นของ 100 mg $NO_2^-$-N/L

**การเตรียมกราฟมาตรฐาน**

นำ Standard nitrite solution จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ 1 mg $NO_2^-$-N/L แล้วเตรียมสารละลายเพื่อทำกราฟมาตราฐาน ตามความเข้มข้นต่อไปนี้

**ตารางผนวกที่ ข2** การเตรียมกราฟมาตรฐานไนไตรท์

| **mg $NO_2^-$-N/L** | **จำนวนมิลลิลิตรของ 1.00 mg $NO_2^-$-N/L ที่ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร** |
|---|---|
| 0.00 | 0.00 |
| 0.02 | 2.00 |
| 0.04 | 4.00 |
| 0.06 | 6.00 |
| 0.08 | 8.00 |
| 0.10 | 10.00 |
| 0.15 | 15.00 |
| 0.20 | 20.00 |

**การวิเคราะห์**

กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง GF/C หรือ Membrane Filter (pore size 0.45 μm) เมื่อน้ำตัวอย่างมีสารแขวนลอย นำน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ใน Flask เติม Color reagent จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**3. วิธีวิเคราะห์ไนเตรท (Cadmium Reduction Method)**
**(ดัดแปลงจาก มั่นสิน (2540); ธรรมรักษ์ (2541); อรทัย (2545); พงศ์เชฏฐ์ (2548))**

**การเตรียมสารเคมี**

1. น้ำกลั่นแบบ Deionized distilled water

2. Concentrated ammonium chloride solution

ละลาย $NH_4Cl$ จำนวน 125 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร และเก็บในขวดแก้ว หรือ ขวดพลาสติก

3. Column wash solution

เจือจาง Concentrated ammonium chloride solution จำนวน 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 2,000 มิลลิลิตร และเติม EDTA จำนวน 0.30 กรัม แล้วปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ให้ได้ 7.5 ด้วย Sodium hydroxide solution

4. Hydrochloric acid 6 N

5. Cupper sulfate solution 2 %

ละลาย $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ จำนวน 20 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วเจือจางให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

6. Sodium hydroxide solution

7. Color reagent

น้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติม 85% Phosphoric acid ($H_3PO_4$) 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตามด้วย Sulfanilamide ($C_6H_8N_2O_2S$) 10 กรัม ผสมให้เข้ากันแล้วเติม *N*-(1-naphthyl)-ethylenediamine

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

dihydrochloride ($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$) 1 กรัม ผสมให้เข้ากันจากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยเก็บสาร ละลายในขวดแก้วสีชา สารละลายจะอยู่ได้ประมาณ 1 เดือน เมื่อเก็บในตู้เย็น

8. Stock nitrate solution

ละลาย 0.7218 กรัม ของ $KNO_3$ (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น) ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร โดยสารละลายนี้จะมีความเข้มข้น 100 mg $NO_3^-$-N/L

9. Standard nitrate solution

นำ Stock nitrate solution จำนวน 1 มิลลิลิตร มาเจือจางในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.1 mg $NO_3^-$-N/l

**การเตรียมเม็ดแคดเมียม**

ล้างเม็ดแคดเมียม 50 กรัม ใน HCl 6 N (แช่เม็ดแคดเมียมจนท่วม และกวนด้วยแท่งแก้วจนเม็ดแคดเมียมสะอาด) เท HCl ทิ้ง จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำกลั่นจนสะอาด แล้วเท Cupper sulfate solution 2 % ประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในเม็ดแคดเมียม กวนให้ทั่วนาน 5 นาที หรือ จนกระทั่งสีน้ำเงิน บางส่วนเริ่มจางหายไปเท Cupper sulfate solution ทิ้ง และเติม Cupper sulfate solution 2 % ใหม่กวนจนมีตะกอนสีน้ำตาลเกิดขึ้น จากนั้นจึงล้างเม็ดแคดเมียมด้วยน้ำกลั่น จนไม่มีตะกอนสีน้ำตาลติดอยู่

**การเตรียมคอลัมน์แคดเมียม**

ใส่ใยแก้ว (Glass wool) ด้านล่างของคอลัมน์ เติม Column wash solution และเติมเม็ดแคดเมียมที่เตรียมไว้ลงในคอลัมน์ จากนั้นปิดทับด้านบนของคอลัมน์ด้วย Glass wool และเติม Column wash solution เพื่อล้างทำความสะอาดคอลัมน์ พร้อมทั้งรักษาระดับ Column wash solution ให้สูงกว่าเม็ดแคดเมียมตลอดเวลา เพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**การตรวจสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์**

การตรวจสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ สามารถทำได้โดยใช้ Standard nitrate solution 0.10 mg $NO_3^-$-N/l ให้เป็นน้ำตัวอย่าง แล้วทำการวิเคราะห์ตามปกติเหมือนน้ำตัวอย่างทุกประการ หากพบว่าน้ำตัวอย่างมาตราฐานมีค่าไนเตรทน้อยให้ทำการเตรียมเม็ดแคมเมียมใหม่ทันที

**การวิเคราะห์**

1. กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง GF/C หรือ Membrane Filter (pore size 0.45 μm) เมื่อน้ำตัวอย่างมีสารแขวนลอย

2. ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำตัวอย่างที่มากกว่า 9 ให้อยู่ระหว่าง 8-9 ด้วย Hydrochloric acid

3. นำน้ำตัวอย่าง 90 มิลลิลิตร เติม Concentrated ammonium chloride solution จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเทลงในคอลัมน์ โดยกำหนดให้อัตราไหลอยู่ที่ 5-8 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้กระบอกตวงรองรับน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ออกมาโดยทิ้งน้ำตัวอย่าง 25-30 มิลลิลิตร แรกที่ผ่านคอลัมน์และเก็บน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านคอลัมน์ในส่วนหลังไปวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างหลาย ๆ ตัวอย่างต่อเนื่องกันไม่จำเป็นต้องล้างคอลัมน์ด้วย Column wash solution แต่ให้ใช้น้ำในตัวอย่างต่อไปล้างคอลัมน์ประมาณ 25-30 มิลลิลิตร

4. นำน้ำตัวอย่างผ่านคอลัมน์แล้วไม่เกิน 15 นาที ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติม Color reagent จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมงแล้ว นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

5. นำค่าไนไตรท์ที่ได้จากการวิเคราะห์ก่อนหน้ามาลบออกจากค่าไนเตรทที่ได้ และปรับค่าชดเชยประสิทธิภาพของคอลัมน์จะได้ค่าไนเตรทที่แท้จริง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**4. วิธีวิเคราะห์ไฮโดรเจนซัลไฟด์**

การวิเคราะห์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ใช้ชุดทดสอบ Water Quality Test Strips for the Detection of Hydrogen Sulfide LR (481197-20) ดังภาพผนวกที่ ข1

**ภาพผนวกที่ ข1** ชุดทดสอบ Hydrogen Sulfide LR (481197-20)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ภาคผนวก ค**

ข้อมูลคุณภาพน้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน แตกต่างกัน

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0:4** | 7.30±0.00$^{a1}$ | 8.27±0.06$^{a1}$ | 8.11±0.03$^{a1}$ | 7.96±0.08$^{a1}$ | 7.89±0.09$^{a1}$ | 7.96±0.08$^{a1}$ | 7.91±0.33 |
| **ทดลอง 0:4** | 7.30±0.00$^{a1}$ | 7.00±0.13$^{b1}$ | 7.00±0.10$^{b1}$ | 7.06±0.12$^{b1}$ | 7.08±0.13$^{b1}$ | 7.14±0.12$^{b1}$ | 7.10±0.11 |
| **ควบคุม 1:3** | 7.30±0.00$^{a2}$ | 8.20±0.12$^{a2}$ | 8.06±0.06$^{a2}$ | 7.96±0.08$^{a2}$ | 7.71±0.13$^{a2}$ | 7.52±0.14$^{a2}$ | 7.79±0.34 |
| **ทดลอง 1:3** | 7.30±0.00$^{a2}$ | 6.94±0.15$^{b2}$ | 6.88±0.13$^{b2}$ | 6.95±0.14$^{b2}$ | 7.03±0.14$^{b2}$ | 7.08±0.09$^{b2}$ | 7.03±0.15 |
| **ควบคุม 1:2** | 7.30±0.00$^{a3}$ | 8.14±0.07$^{a3}$ | 7.87±0.08$^{a3}$ | 7.77±0.12$^{a3}$ | 7.48±0.26$^{a3}$ | 7.51±0.13$^{a3}$ | 7.68±0.31 |
| **ทดลอง 1:2** | 7.30±0.00$^{a3}$ | 6.79±0.19$^{b3}$ | 6.78±0.18$^{b3}$ | 6.90±0.10$^{b3}$ | 6.98±0.08$^{b3}$ | 7.04±0.03$^{b3}$ | 6.96±0.19 |
| **ควบคุม 1:1** | 7.30±0.00$^{a4}$ | 8.12±0.07$^{a4}$ | 7.88±0.09$^{a4}$ | 7.82±0.09$^{a4}$ | 7.50±0.15$^{a4}$ | 7.58±0.15$^{a4}$ | 7.70±0.30 |
| **ทดลอง 1:1** | 7.30±0.00$^{a4}$ | 6.67±0.19$^{b4}$ | 6.70±0.18$^{b4}$ | 6.82±0.17$^{b4}$ | 6.93±0.13$^{b4}$ | 7.02±0.09$^{b4}$ | 6.90±0.23 |
| **ควบคุม 2:1** | 7.30±0.00$^{a5}$ | 8.16±0.06$^{a5}$ | 7.85±0.01$^{a5}$ | 7.77±0.05$^{a5}$ | 7.52±0.16$^{a5}$ | 7.50±0.27$^{a5}$ | 7.68±0.31 |
| **ทดลอง 2:1** | 7.30±0.00$^{a5}$ | 6.46±0.22$^{b5}$ | 6.56±0.21$^{b5}$ | 6.69±0.11$^{b5}$ | 6.80±0.06$^{b5}$ | 6.92±0.04$^{b5}$ | 6.79±0.30 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 3:1** | 7.30±0.00$^{a6}$ | 8.17±0.06$^{a6}$ | 7.92±0.08$^{a6}$ | 7.80±0.05$^{a6}$ | 7.40±0.32$^{a6}$ | 7.47±0.14$^{a6}$ | 7.67±0.34 |
| **ทดลอง 3:1** | 7.30±0.00$^{a6}$ | 6.39±0.22$^{b6}$ | 6.51±0.17$^{b6}$ | 6.62±0.13$^{b6}$ | 6.70±0.08$^{b6}$ | 6.84±0.05$^{b6}$ | 6.73±0.32 |
| **ควบคุม 4:0** | 7.30±0.00$^{a7}$ | 7.56±0.01$^{a7}$ | 7.32±0.08$^{a7}$ | 7.13±0.05$^{a7}$ | 6.87±0.06$^{a7}$ | 6.74±0.01$^{a7}$ | 7.15±0.30 |
| **ทดลอง 4:0** | 7.30±0.00$^{a7}$ | 5.62±0.46$^{b7}$ | 5.59±0.34$^{b7}$ | 5.71±0.09$^{b7}$ | 5.84±0.08$^{b7}$ | 5.90±0.07$^{b7}$ | 5.99±0.65 |
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0:4** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.00±0.13$^{a}$ | 7.00±0.10$^{a}$ | 7.06±0.12$^{a}$ | 7.08±0.13$^{a}$ | 7.14±0.12$^{a}$ | 7.10±0.11 |
| **ทดลอง 1:3** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.94±0.15$^{a}$ | 6.88±0.13$^{ab}$ | 6.95±0.14$^{ab}$ | 7.03±0.14$^{a}$ | 7.08±0.09$^{a}$ | 7.03±0.15 |
| **ทดลอง 1:2** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.79±0.19$^{a}$ | 6.78±0.18$^{abc}$ | 6.90±0.10$^{ab}$ | 6.98±0.08$^{a}$ | 7.04±0.03$^{ab}$ | 6.96±0.19 |
| **ทดลอง 1:1** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.67±0.19$^{ab}$ | 6.70±0.18$^{bc}$ | 6.82±0.17$^{bc}$ | 6.93±0.13$^{ab}$ | 6.98±0.09$^{ab}$ | 6.90±0.23 |
| **ทดลอง 2:1** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.46±0.22$^{b}$ | 6.56±0.21$^{c}$ | 6.69±0.11$^{cd}$ | 6.80±0.06$^{ab}$ | 6.92±0.04$^{ab}$ | 6.79±0.30 |
| **ทดลอง 3:1** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.39±0.22$^{b}$ | 6.51±0.17$^{c}$ | 6.62±0.13$^{d}$ | 6.70±0.08$^{b}$ | 6.84±0.05$^{b}$ | 6.73±0.32 |
| **ทดลอง 4:0** | 7.30±0.00$^{a}$ | 5.62±0.46$^{c}$ | 5.59±0.34$^{d}$ | 5.71±0.09$^{e}$ | 5.84±0.08$^{c}$ | 5.90±0.07$^{c}$ | 5.99±0.65 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าแอมโมเนียรวม (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0:4** | 26.00±0.00$^{a1}$ | 28.17±1.68$^{a1}$ | 27.38±3.56$^{a1}$ | 24.76±2.60$^{a1}$ | 26.39±4.34$^{a1}$ | 24.68±2.38$^{a1}$ | 26.23±1.39 |
| **ทดลอง 0:4** | 26.00±0.00$^{a1}$ | 18.38±1.37$^{b1}$ | 21.48±0.85$^{a1}$ | 23.09±0.30$^{a1}$ | 26.09±1.57$^{a1}$ | 28.32±0.61$^{b1}$ | 23.89±3.63 |
| **ควบคุม 1:3** | 26.00±0.00$^{a2}$ | 23.39±2.86$^{a2}$ | 26.55±4.32$^{a2}$ | 24.70±2.71$^{a2}$ | 26.32±2.43$^{a2}$ | 22.36±1.10$^{a2}$ | 24.89±1.72 |
| **ทดลอง 1:3** | 26.00±0.00$^{a2}$ | 21.34±1.81$^{a2}$ | 25.95±0.88$^{a2}$ | 27.64±0.67$^{a2}$ | 31.25±1.21$^{a2}$ | 38.86±0.32$^{b2}$ | 28.51±5.99 |
| **ควบคุม 1:2** | 26.00±0.00$^{a3}$ | 20.32±0.23$^{a3}$ | 22.82±1.92$^{a3}$ | 24.97±3.43$^{a3}$ | 27.74±4.69$^{a3}$ | 27.05±2.27$^{a3}$ | 24.82±2.80 |
| **ทดลอง 1:2** | 26.00±0.00$^{a3}$ | 17.87±0.99$^{a3}$ | 19.61±0.70$^{a3}$ | 22.90±1.33$^{a3}$ | 26.11±0.48$^{a3}$ | 37.54±0.92$^{b3}$ | 25.01±6.98 |
| **ควบคุม 1:1** | 26.00±0.00$^{a4}$ | 25.20±0.65$^{a4}$ | 25.30±1.37$^{a4}$ | 24.37±0.82$^{a4}$ | 24.60±1.20$^{a4}$ | 24.91±0.83$^{a4}$ | 25.06±0.58 |
| **ทดลอง 1:1** | 26.00±0.00$^{a4}$ | 15.16±2.59$^{b4}$ | 20.83±1.13$^{a4}$ | 23.24±1.27$^{a4}$ | 24.25±0.51$^{a4}$ | 26.88±0.64$^{a4}$ | 22.73±4.27 |
| **ควบคุม 2:1** | 26.00±0.00$^{a5}$ | 24.06±1.65$^{a5}$ | 24.80±4.72$^{a5}$ | 24.21±1.65$^{a5}$ | 25.70±0.90$^{a5}$ | 24.87±2.94$^{a5}$ | 24.94±0.78 |
| **ทดลอง 2:1** | 26.00±0.00$^{a5}$ | 18.15±0.83$^{b5}$ | 20.52±1.38$^{a5}$ | 24.05±1.27$^{a5}$ | 26.42±0.40$^{a5}$ | 27.80±0.46$^{b5}$ | 23.82±3.75 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 3:1** | 26.00±0.00$^{a6}$ | 21.75±0.75$^{a6}$ | 24.28±3.18$^{a6}$ | 25.60±0.66$^{a6}$ | 27.18±3.31$^{a6}$ | 29.06±1.09$^{a6}$ | 25.64±2.50 |
| **ทดลอง 3:1** | 26.00±0.00$^{a6}$ | 20.34±1.10$^{a6}$ | 21.46±2.71$^{a6}$ | 27.68±2.32$^{a6}$ | 29.03±3.25$^{a6}$ | 33.66±1.32$^{a6}$ | 26.36±4.95 |
| **ควบคุม 4:0** | 26.00±0.00$^{a7}$ | 24.29±0.65$^{a7}$ | 24.61±4.34$^{a7}$ | 26.03±2.75$^{a7}$ | 27.34±0.72$^{a7}$ | 28.17±0.25$^{a7}$ | 26.07±1.51 |
| **ทดลอง 4:0** | 26.00±0.00$^{a7}$ | 21.40±0.98$^{a7}$ | 24.05±2.48$^{a7}$ | 24.58±1.99$^{a7}$ | 27.80±1.84$^{a7}$ | 35.79±1.76$^{b7}$ | 26.60±4.98 |
| **ค่าแอมโมเนียรวม (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0:4** | 26.00±0.00$^{a}$ | 18.38±1.37$^{ab}$ | 21.48±0.85$^{a}$ | 23.09±0.30$^{a}$ | 26.09±1.57$^{a}$ | 28.32±0.61$^{ab}$ | 23.89±3.63 |
| **ทดลอง 1:3** | 26.00±0.00$^{a}$ | 21.34±1.81$^{b}$ | 25.95±0.88$^{a}$ | 27.64±0.67$^{ab}$ | 31.25±1.21$^{a}$ | 38.86±0.32$^{abc}$ | 28.51±5.99 |
| **ทดลอง 1:2** | 26.00±0.00$^{a}$ | 17.87±0.99$^{ac}$ | 19.61±0.70$^{a}$ | 22.90±1.33$^{a}$ | 26.11±0.48$^{a}$ | 37.54±0.92$^{ab}$ | 25.01±6.98 |
| **ทดลอง 1:1** | 26.00±0.00$^{a}$ | 15.16±2.59$^{c}$ | 20.83±1.13$^{a}$ | 23.24±1.27$^{ab}$ | 24.25±0.51$^{a}$ | 26.88±0.64$^{a}$ | 22.73±4.27 |
| **ทดลอง 2:1** | 26.00±0.00$^{a}$ | 18.15±0.83$^{ab}$ | 20.52±1.38$^{a}$ | 24.05±1.27$^{ab}$ | 26.42±0.40$^{ab}$ | 27.80±0.46$^{abc}$ | 23.82±3.75 |
| **ทดลอง 3:1** | 26.00±0.00$^{a}$ | 20.34±1.10$^{ab}$ | 21.46±2.71$^{a}$ | 27.68±2.32$^{ab}$ | 29.03±3.25$^{ab}$ | 33.66±1.32$^{bc}$ | 26.36±4.95 |
| **ทดลอง 4:0** | 26.00±0.00$^{a}$ | 21.40±0.98$^{b}$ | 24.05±2.48$^{a}$ | 24.58±1.99$^{b}$ | 27.80±1.84$^{b}$ | 35.79±1.76$^{c}$ | 26.60±4.98 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0:4** | 0.00±0.00$^{a1}$ | 0.12±0.20$^{a1}$ | 2.67±0.87$^{a1}$ | 4.24±0.61$^{a1}$ | 4.78±0.51$^{a1}$ | 5.01±0.46$^{a1}$ | 2.80±2.28 |
| **ทดลอง 0:4** | 0.00±0.00$^{a1}$ | 9.43±0.77$^{b1}$ | 11.54±0.92$^{b1}$ | 10.48±1.08$^{b1}$ | 5.95±2.26$^{a1}$ | 2.57±2.37$^{a1}$ | 6.66±4.64 |
| **ควบคุม 1:3** | 0.00±0.00$^{a2}$ | 0.16±0.29$^{a2}$ | 1.38±1.07$^{a2}$ | 2.44±0.97$^{a2}$ | 3.04±1.03$^{a2}$ | 3.53±0.85$^{a2}$ | 1.76±1.49 |
| **ทดลอง 1:3** | 0.00±0.00$^{a2}$ | 7.45±1.27$^{b2}$ | 10.11±1.94$^{b2}$ | 8.64±2.81$^{b2}$ | 5.36±2.84$^{a2}$ | 2.83±2.12$^{a2}$ | 5.73±3.80 |
| **ควบคุม 1:2** | 0.00±0.00$^{a3}$ | 0.00±0.00$^{a3}$ | 0.93±0.04$^{a3}$ | 1.74±0.11$^{a3}$ | 2.19±0.04$^{a3}$ | 2.66±0.22$^{a3}$ | 1.25±1.13 |
| **ทดลอง 1:2** | 0.00±0.00$^{a3}$ | 8.66±2.38$^{b3}$ | 13.12±3.70$^{b3}$ | 12.59±5.62$^{b3}$ | 6.85±2.97$^{b3}$ | 3.15±2.77$^{a3}$ | 7.40±5.19 |
| **ควบคุม 1:1** | 0.00±0.00$^{a4}$ | 0.00±0.00$^{a4}$ | 0.49±0.43$^{a4}$ | 1.25±0.07$^{a4}$ | 1.76±0.39$^{a4}$ | 2.16±0.41$^{a4}$ | 0.94±0.92 |
| **ทดลอง 1:1** | 0.00±0.00$^{a4}$ | 8.94±1.51$^{b4}$ | 14.71±2.18$^{b4}$ | 15.46±2.58$^{b4}$ | 7.65±1.32$^{b4}$ | 1.73±1.07$^{a4}$ | 8.08±6.40 |
| **ควบคุม 2:1** | 0.00±0.00$^{a5}$ | 0.00±0.00$^{a5}$ | 0.23±0.35$^{a5}$ | 0.91±0.32$^{a5}$ | 1.53±0.26$^{a5}$ | 1.89±0.42$^{a5}$ | 0.76±0.81 |
| **ทดลอง 2:1** | 0.00±0.00$^{a5}$ | 10.41±1.31$^{b5}$ | 16.41±3.49$^{b5}$ | 17.49±4.03$^{b5}$ | 9.91±2.31$^{b5}$ | 4.07±2.89$^{a5}$ | 9.71±6.81 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 3:1** | 0.00±0.00$^{a6}$ | 0.00±0.00$^{a6}$ | 0.09±0.11$^{a6}$ | 0.60±0.23$^{a6}$ | 1.16±0.59$^{a6}$ | 1.27±0.51$^{a6}$ | 0.52±0.58 |
| **ทดลอง 3:1** | 0.00±0.00$^{a6}$ | 10.48±1.02$^{b6}$ | 15.33±2.19$^{b6}$ | 16.50±3.01$^{b6}$ | 11.03±1.74$^{b6}$ | 4.64±2.49$^{b6}$ | 9.66±6.32 |
| **ควบคุม 4:0** | 0.00±0.00$^{a7}$ | 0.00±0.00$^{a7}$ | 0.05±0.08$^{a7}$ | 0.48±0.18$^{a7}$ | 0.49±0.50$^{a7}$ | 0.28±0.49$^{a7}$ | 0.22±0.23 |
| **ทดลอง 4:0** | 0.00±0.00$^{a7}$ | 4.96±0.18$^{b7}$ | 4.28±0.21$^{b7}$ | 2.46±1.71$^{a7}$ | 1.56±2.41$^{a7}$ | 1.49±2.35$^{a7}$ | 2.46±1.86 |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0:4** | 0.00±0.00$^{a}$ | 9.43±0.77$^{ac}$ | 11.54±0.92$^{a}$ | 10.48±1.08$^{a}$ | 5.95±2.26$^{a}$ | 2.57±2.37$^{a}$ | 6.66±4.64 |
| **ทดลอง 1:3** | 0.00±0.00$^{a}$ | 7.45±1.27$^{b}$ | 10.11±1.94$^{a}$ | 8.64±2.81$^{a}$ | 5.36±2.84$^{a}$ | 2.83±2.12$^{a}$ | 5.73±3.80 |
| **ทดลอง 1:2** | 0.00±0.00$^{a}$ | 8.66±2.38$^{ab}$ | 13.12±3.70$^{ab}$ | 12.59±5.62$^{ab}$ | 6.85±2.97$^{a}$ | 3.15±2.77$^{a}$ | 7.40±5.19 |
| **ทดลอง 1:1** | 0.00±0.00$^{a}$ | 8.94±1.51$^{abc}$ | 14.71±2.18$^{bc}$ | 15.46±2.58$^{bc}$ | 7.65±1.32$^{ab}$ | 1.73±1.07$^{a}$ | 8.08±6.40 |
| **ทดลอง 2:1** | 0.00±0.00$^{a}$ | 10.41±1.31$^{ac}$ | 16.41±3.49$^{c}$ | 17.49±4.03$^{c}$ | 9.91±2.31$^{bc}$ | 4.07±2.89$^{a}$ | 9.71±6.81 |
| **ทดลอง 3:1** | 0.00±0.00$^{a}$ | 10.48±1.02$^{c}$ | 15.33±2.19$^{bc}$ | 16.50±3.01$^{bc}$ | 11.03±1.74$^{c}$ | 4.64±2.49$^{a}$ | 9.66±6.32 |
| **ทดลอง 4:0** | 0.00±0.00$^{a}$ | 4.96±0.18$^{d}$ | 4.28±0.21$^{d}$ | 2.46±1.71$^{d}$ | 1.56±2.41$^{d}$ | 1.49±2.35$^{a}$ | 2.46±1.86 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0:4** | 50.00±0.00$^{a1}$ | 52.53±1.33$^{a1}$ | 49.97±1.24$^{a1}$ | 49.50±1.30$^{a1}$ | 48.22±0.78$^{a1}$ | 46.56±0.67$^{a1}$ | 49.46±2.00 |
| **ทดลอง 0:4** | 50.00±0.00$^{a1}$ | 33.98±2.84$^{b1}$ | 15.83±3.85$^{b1}$ | 7.80±3.17$^{b1}$ | 2.64±2.91$^{b1}$ | 0.71±0.56$^{b1}$ | 18.49±19.60 |
| **ควบคุม 1:3** | 50.00±0.00$^{a2}$ | 53.17±1.66$^{a2}$ | 51.56±0.72$^{a2}$ | 50.22±1.29$^{a2}$ | 49.55±1.52$^{a2}$ | 49.11±2.04$^{a2}$ | 50.60±1.51 |
| **ทดลอง 1:3** | 50.00±0.00$^{a2}$ | 34.99±1.87$^{b2}$ | 17.72±3.83$^{b2}$ | 9.35±3.21$^{b2}$ | 3.61±2.16$^{b2}$ | 1.62±0.65$^{b2}$ | 19.55±19.23 |
| **ควบคุม 1:2** | 50.00±0.00$^{a3}$ | 53.48±2.32$^{a3}$ | 53.12±2.23$^{a3}$ | 52.02±2.03$^{a3}$ | 51.34±2.20$^{a3}$ | 50.25±2.41$^{a3}$ | 51.70±1.45 |
| **ทดลอง 1:2** | 50.00±0.00$^{a3}$ | 36.12±2.00$^{b3}$ | 18.60±4.31$^{b3}$ | 10.03±2.77$^{b3}$ | 4.04±2.07$^{b3}$ | 2.09±0.56$^{b3}$ | 20.15±19.17 |
| **ควบคุม 1:1** | 50.00±0.00$^{a4}$ | 53.27±1.28$^{a4}$ | 52.88±1.01$^{a4}$ | 52.03±1.65$^{a4}$ | 51.82±1.78$^{a4}$ | 50.64±1.82$^{a4}$ | 51.77±1.26 |
| **ทดลอง 1:1** | 50.00±0.00$^{a4}$ | 28.48±3.17$^{b4}$ | 7.71±4.07$^{b4}$ | 1.26±2.19$^{b4}$ | 0.32±0.56$^{b4}$ | 0.00±0.00$^{b4}$ | 14.63±20.44 |
| **ควบคุม 2:1** | 50.00±0.00$^{a5}$ | 52.95±1.99$^{a5}$ | 52.58±1.86$^{a5}$ | 52.27±1.57$^{a5}$ | 51.10±1.68$^{a5}$ | 50.25±1.16$^{a5}$ | 51.52±1.25 |
| **ทดลอง 2:1** | 50.00±0.00$^{a5}$ | 32.60±3.83$^{b5}$ | 14.05±5.09$^{b5}$ | 3.41±5.19$^{b5}$ | 1.31±2.27$^{b5}$ | 0.30±0.52$^{b5}$ | 16.94±20.25 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค1** (ต่อ)

| อัตราส่วนกำมะถัน:หินปูน | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 3:1** | 50.00±0.00$^{a6}$ | 53.42±1.98$^{a6}$ | 52.68±2.45$^{a6}$ | 51.55±2.15$^{a6}$ | 50.88±1.47$^{a6}$ | 50.60±1.42$^{a6}$ | 51.52±1.31 |
| **ทดลอง 3:1** | 50.00±0.00$^{a6}$ | 33.47±2.79$^{b6}$ | 16.34±6.66$^{b6}$ | 6.36±6.46$^{b6}$ | 1.70±2.95$^{b6}$ | 0.49±0.85$^{b6}$ | 18.06±19.87 |
| **ควบคุม 4:0** | 50.00±0.00$^{a7}$ | 53.73±2.16$^{a7}$ | 52.85±2.57$^{a7}$ | 52.27±2.22$^{a7}$ | 51.48±1.90$^{a7}$ | 50.23±1.79$^{a7}$ | 51.76±1.47 |
| **ทดลอง 4:0** | 50.00±0.00$^{a7}$ | 47.49±2.35$^{b7}$ | 46.94±2.27$^{b7}$ | 46.31±1.97$^{b7}$ | 46.23±1.95$^{b7}$ | 44.99±3.60$^{b7}$ | 46.99±1.69 |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0:4** | 50.00±0.00$^{a}$ | 33.98±2.84$^{a}$ | 15.83±3.85$^{a}$ | 7.80±3.17$^{ab}$ | 2.64±2.91$^{a}$ | 0.71±0.56$^{a}$ | 18.49±19.60 |
| **ทดลอง 1:3** | 50.00±0.00$^{a}$ | 34.99±1.87$^{a}$ | 17.72±3.83$^{a}$ | 9.35±3.21$^{b}$ | 3.61±2.16$^{a}$ | 1.62±0.65$^{a}$ | 19.55±19.23 |
| **ทดลอง 1:2** | 50.00±0.00$^{a}$ | 36.12±2.00$^{a}$ | 18.60±4.31$^{a}$ | 10.03±2.77$^{b}$ | 4.04±2.07$^{a}$ | 2.09±0.56$^{a}$ | 20.15±19.17 |
| **ทดลอง 1:1** | 50.00±0.00$^{a}$ | 28.48±3.17$^{b}$ | 7.71±4.07$^{b}$ | 1.26±2.19$^{c}$ | 0.32±0.56$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 14.63±20.44 |
| **ทดลอง 2:1** | 50.00±0.00$^{a}$ | 32.60±3.83$^{a}$ | 14.05±5.09$^{a}$ | 3.41±5.19$^{ac}$ | 1.31±2.27$^{a}$ | 0.30±0.52$^{a}$ | 16.94±20.25 |
| **ทดลอง 3:1** | 50.00±0.00$^{a}$ | 33.47±2.79$^{a}$ | 16.34±6.66$^{a}$ | 6.36±6.46$^{abc}$ | 1.70±2.95$^{a}$ | 0.49±0.85$^{a}$ | 18.06±19.87 |
| **ทดลอง 4:0** | 50.00±0.00$^{a}$ | 47.49±2.35$^{c}$ | 46.94±2.27$^{c}$ | 46.31±1.97$^{d}$ | 46.23±1.95$^{b}$ | 44.99±3.60$^{b}$ | 46.99±1.69 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค2** ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ปริมาณของแบคทีเรียแตกต่างกัน

| ค่าการดูดกลืนแสง Optical density (OD) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)** | | | | | | | |
| **ควบคุม** | 7.30±0.00$^{a}$ | 8.24±0.02$^{a}$ | 8.10±0.09$^{a}$ | 8.04±0.05$^{a}$ | 7.86±0.09$^{a}$ | 8.16±0.22$^{a}$ | 7.95±0.34 |
| **ทดลอง OD 0.1** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.66±0.17$^{b}$ | 7.51±0.06$^{b}$ | 7.44±0.14$^{b}$ | 7.25±0.22$^{b}$ | 7.30±0.28$^{b}$ | 7.41±0.16 |
| **ทดลอง OD 0.2** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.45±0.01$^{bc}$ | 7.27±0.04$^{bc}$ | 7.27±0.11$^{bc}$ | 7.15±0.22$^{b}$ | 7.21±0.24$^{b}$ | 7.27±0.10 |
| **ทดลอง OD 0.3** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.36±0.03$^{c}$ | 7.17±0.08$^{cd}$ | 7.21±0.15$^{bcd}$ | 7.14±0.22$^{b}$ | 7.15±0.18$^{b}$ | 7.22±0.09 |
| **ทดลอง OD 0.4** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.21±0.06$^{cd}$ | 7.10±0.09$^{cde}$ | 7.16±0.18$^{bcd}$ | 7.10±0.25$^{b}$ | 7.19±0.26$^{b}$ | 7.18±0.07 |
| **ทดลอง OD 0.5** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.08±0.11$^{de}$ | 7.01±0.07$^{cdef}$ | 7.04±0.17$^{cd}$ | 7.14±0.15$^{b}$ | 7.15±0.17$^{b}$ | 7.12±0.10 |
| **ทดลอง OD 0.6** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.07±0.08$^{de}$ | 6.99±0.07$^{cdef}$ | 7.07±0.23$^{cd}$ | 7.08±0.24$^{b}$ | 7.16±0.22$^{b}$ | 7.11±0.11 |
| **ทดลอง OD 0.7** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.99±0.20$^{de}$ | 6.89±0.18$^{def}$ | 6.96±0.17$^{cd}$ | 7.00±0.17$^{b}$ | 7.09±0.25$^{b}$ | 7.04±0.14 |
| **ทดลอง OD 0.8** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.95±0.20$^{de}$ | 6.85±0.16$^{ef}$ | 6.93±0.21$^{cd}$ | 7.00±0.26$^{b}$ | 7.10±0.30$^{b}$ | 7.02±0.16 |
| **ทดลอง OD 0.9** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.84±0.24$^{e}$ | 6.73±0.27$^{f}$ | 6.88±0.25$^{d}$ | 6.90±0.25$^{b}$ | 7.00±0.31$^{b}$ | 6.94±0.20 |
| **ทดลอง OD 1.0** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.88±0.25$^{e}$ | 6.76±0.32$^{f}$ | 6.91±0.31$^{cd}$ | 6.94±0.35$^{b}$ | 7.03±0.37$^{b}$ | 6.97±0.18 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค2** (ต่อ)

| ค่าการดูดกลืนแสง Optical density (OD) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าแอมโมเนียรวม** | | | | | | | |
| **ควบคุม** | 26.00±0.00$^{a}$ | 25.56±0.62$^{a}$ | 25.88±0.50$^{a}$ | 24.74±0.13$^{bc}$ | 26.31±0.73$^{a}$ | 26.08±0.79$^{a}$ | 25.76±0.56 |
| **ทดลอง OD 0.1** | 26.00±0.00$^{a}$ | 24.20±0.95$^{ab}$ | 25.50±1.56$^{a}$ | 26.20±1.49$^{ab}$ | 26.05±0.61$^{a}$ | 26.39±0.52$^{a}$ | 25.72±0.80 |
| **ทดลอง OD 0.2** | 26.00±0.00$^{a}$ | 22.83±0.83$^{bc}$ | 26.11±0.52$^{a}$ | 24.76±1.06$^{bc}$ | 25.92±0.74$^{a}$ | 26.35±0.10$^{a}$ | 25.33±1.34 |
| **ทดลอง OD 0.3** | 26.00±0.00$^{a}$ | 22.94±0.63$^{bc}$ | 24.78±1.42$^{ab}$ | 25.20±0.99$^{abc}$ | 25.42±1.31$^{a}$ | 25.60±0.92$^{a}$ | 24.99±1.08 |
| **ทดลอง OD 0.4** | 26.00±0.00$^{a}$ | 22.18±1.25$^{cd}$ | 25.70±0.84$^{a}$ | 26.81±0.12$^{a}$ | 26.44±0.27$^{a}$ | 26.59±1.35$^{a}$ | 25.62±1.73 |
| **ทดลอง OD 0.5** | 26.00±0.00$^{a}$ | 20.56±0.54$^{de}$ | 24.13±2.52$^{ab}$ | 25.03±1.18$^{bc}$ | 25.69±0.90$^{a}$ | 25.87±1.39$^{a}$ | 24.55±2.07 |
| **ทดลอง OD 0.6** | 26.00±0.00$^{a}$ | 20.01±1.14$^{ef}$ | 25.96±0.24$^{a}$ | 26.85±0.07$^{a}$ | 25.89±0.39$^{a}$ | 26.06±1.27$^{a}$ | 25.13±2.53 |
| **ทดลอง OD 0.7** | 26.00±0.00$^{a}$ | 18.30±1.34$^{fg}$ | 24.85±1.02$^{ab}$ | 25.52±0.06$^{abc}$ | 26.01±0.43$^{a}$ | 26.48±0.34$^{a}$ | 24.52±3.10 |
| **ทดลอง OD 0.8** | 26.00±0.00$^{a}$ | 17.28±1.88$^{g}$ | 22.48±1.05$^{b}$ | 24.25±0.95$^{c}$ | 25.04±0.70$^{ab}$ | 26.16±0.82$^{a}$ | 23.54±3.34 |
| **ทดลอง OD 0.9** | 26.00±0.00$^{a}$ | 14.98±0.23$^{h}$ | 19.86±3.12$^{c}$ | 22.51±1.13$^{d}$ | 25.33±1.91$^{a}$ | 25.72±1.44$^{a}$ | 22.40±4.34 |
| **ทดลอง OD 1.0** | 26.00±0.00$^{a}$ | 12.81±1.55$^{i}$ | 16.77±0.75$^{d}$ | 19.89±1.16$^{e}$ | 23.72±0.62$^{b}$ | 25.70±1.00$^{a}$ | 20.81±5.30 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค2** (ต่อ)

| ค่าการดูดกลืนแสง Optical density (OD) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน** | | | | | | | |
| **ควบคุม** | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.32±0.38$^{a}$ | 0.84±0.56$^{a}$ | 1.47±0.31$^{a}$ | 2.50±0.73$^{a}$ | 3.04±0.34$^{a}$ | 1.36±1.21 |
| **ทดลอง OD 0.1** | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.87±0.10$^{a}$ | 3.64±0.78$^{b}$ | 5.61±0.42$^{b}$ | 6.87±0.66$^{bc}$ | 7.84±1.87$^{c}$ | 4.14±3.21 |
| **ทดลอง OD 0.2** | 0.00±0.00$^{a}$ | 2.28±0.26$^{b}$ | 5.80±0.35$^{c}$ | 6.60±0.10$^{bc}$ | 7.28±0.52$^{c}$ | 5.54±0.24$^{b}$ | 4.58±2.83 |
| **ทดลอง OD 0.3** | 0.00±0.00$^{a}$ | 3.79±1.13$^{c}$ | 6.47±0.71$^{cd}$ | 6.67±0.25$^{bc}$ | 6.96±0.32$^{bc}$ | 5.09±0.83$^{b}$ | 4.83±2.65 |
| **ทดลอง OD 0.4** | 0.00±0.00$^{a}$ | 4.87±0.45$^{d}$ | 7.68±0.39$^{de}$ | 7.45±0.43$^{cd}$ | 6.90±0.72$^{bc}$ | 5.29±0.62$^{b}$ | 5.37±2.87 |
| **ทดลอง OD 0.5** | 0.00±0.00$^{a}$ | 4.96±0.06$^{d}$ | 8.58±1.10$^{ef}$ | 8.17±1.77$^{cde}$ | 7.47±1.14$^{c}$ | 5.49±1.46$^{b}$ | 5.78±3.18 |
| **ทดลอง OD 0.6** | 0.00±0.00$^{a}$ | 6.91±0.11$^{e}$ | 9.11±1.07$^{efg}$ | 9.06±1.51$^{de}$ | 7.23±0.68$^{c}$ | 4.13±0.94$^{ab}$ | 6.07±3.49 |
| **ทดลอง OD 0.7** | 0.00±0.00$^{a}$ | 6.86±0.31$^{e}$ | 8.67±0.23$^{f}$ | 7.74±1.11$^{cd}$ | 6.26±1.01$^{bc}$ | 3.95±0.94$^{ab}$ | 5.58±3.17 |
| **ทดลอง OD 0.8** | 0.00±0.00$^{a}$ | 7.94±0.29$^{e}$ | 10.08±0.67$^{g}$ | 7.65±0.73$^{cd}$ | 5.68±0.16$^{b}$ | 2.78±0.75$^{a}$ | 5.69±3.72 |
| **ทดลอง OD 0.9** | 0.00±0.00$^{a}$ | 9.78±1.11$^{f}$ | 12.58±0.71$^{h}$ | 9.80±0.98$^{e}$ | 6.50±1.25$^{bc}$ | 2.49±0.35$^{a}$ | 6.86±4.82 |
| **ทดลอง OD 1.0** | 0.00±0.00$^{a}$ | 10.80±1.03$^{f}$ | 12.84±1.23$^{h}$ | 9.60±0.32$^{e}$ | 6.48±0.56$^{bc}$ | 2.55±0.25$^{a}$ | 7.04±4.99 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค2** (ต่อ)

| ค่าการดูดกลืนแสง Optical density (OD) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน** | | | | | | | |
| **ควบคุม** | 50.00±0.00$^{a}$ | 50.54±0.30$^{a}$ | 50.17±0.41$^{a}$ | 49.60±0.12$^{a}$ | 48.43±0.70$^{a}$ | 46.94±1.02$^{a}$ | 49.28±1.36 |
| **ทดลอง OD 0.1** | 50.00±0.00$^{a}$ | 49.16±0.63$^{a}$ | 41.94±1.48$^{b}$ | 33.48±2.41$^{b}$ | 24.35±1.67$^{b}$ | 15.12±1.28$^{b}$ | 35.68±14.02 |
| **ทดลอง OD 0.2** | 50.00±0.00$^{a}$ | 46.28±2.21$^{b}$ | 36.54±3.56$^{c}$ | 26.24±3.64$^{c}$ | 17.43±3.52$^{c}$ | 9.75±3.56$^{c}$ | 31.04±16.02 |
| **ทดลอง OD 0.3** | 50.00±0.00$^{a}$ | 43.69±1.88$^{c}$ | 32.94±3.51$^{d}$ | 24.06±4.15$^{cd}$ | 15.02±4.37$^{c}$ | 8.40±3.25$^{c}$ | 29.02±16.23 |
| **ทดลอง OD 0.4** | 50.00±0.00$^{a}$ | 41.24±1.34$^{d}$ | 29.33±2.64$^{e}$ | 21.04±2.26$^{de}$ | 14.05±2.80$^{cd}$ | 6.73±1.33$^{cd}$ | 27.07±16.44 |
| **ทดลอง OD 0.5** | 50.00±0.00$^{a}$ | 39.50±1.12$^{d}$ | 26.37±1.10$^{ef}$ | 18.17±2.20$^{ef}$ | 11.87±4.45$^{cde}$ | 4.86±1.15$^{de}$ | 25.13±17.10 |
| **ทดลอง OD 0.6** | 50.00±0.00$^{a}$ | 37.29±0.43$^{e}$ | 23.54±0.76$^{fg}$ | 15.38±3.57$^{f}$ | 8.72±5.00$^{def}$ | 3.25±1.99$^{ef}$ | 23.03±17.81 |
| **ทดลอง OD 0.7** | 50.00±0.00$^{a}$ | 35.63±0.59$^{ef}$ | 22.15±1.48$^{g}$ | 13.51±3.39$^{fg}$ | 7.00±5.03$^{efg}$ | 2.01±1.41$^{ef}$ | 21.72±18.25 |
| **ทดลอง OD 0.8** | 50.00±0.00$^{a}$ | 34.80±1.13$^{f}$ | 20.18±0.54$^{gh}$ | 10.69±1.01$^{gh}$ | 3.88±3.55$^{fg}$ | 0.79±0.92$^{f}$ | 20.06±19.16 |
| **ทดลอง OD 0.9** | 50.00±0.00$^{a}$ | 31.21±1.15$^{g}$ | 17.78±0.41$^{h}$ | 6.96±1.77$^{hi}$ | 2.65±2.00$^{fg}$ | 0.14±0.05$^{f}$ | 18.12±19.37 |
| **ทดลอง OD 1.0** | 50.00±0.00$^{a}$ | 27.42±0.79$^{h}$ | 14.30±0.76$^{i}$ | 4.65±1.32$^{i}$ | 0.79±0.91$^{g}$ | 0.00±0.00$^{f}$ | 16.19±19.52 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค3** ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน

| ระดับความเค็ม (ppt) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0** | 7.30±0.00$^{a1}$ | 8.26±0.07$^{a1}$ | 7.97±0.09$^{a1}$ | 7.89±0.09$^{a1}$ | 7.51±0.06$^{a1}$ | 7.42±0.08$^{a1}$ | 7.73±0.37 |
| **ทดลอง 0** | 7.30±0.00$^{a1}$ | 6.88±0.16$^{b1}$ | 6.74±0.19$^{b1}$ | 6.67±0.20$^{b1}$ | 6.84±0.15$^{b1}$ | 6.95±0.18$^{b1}$ | 6.90±0.22 |
| **ควบคุม 10** | 7.30±0.00$^{a2}$ | 8.31±0.07$^{a2}$ | 8.07±0.04$^{a2}$ | 8.02±0.05$^{a2}$ | 7.95±0.08$^{a2}$ | 7.93±0.04$^{a2}$ | 7.93±0.34 |
| **ทดลอง 10** | 7.30±0.00$^{a2}$ | 6.91±0.06$^{b2}$ | 6.78±0.10$^{b2}$ | 6.81±0.06$^{b2}$ | 6.87±0.02$^{b2}$ | 6.89±0.02$^{b2}$ | 6.93±0.19 |
| **ควบคุม 20** | 7.30±0.00$^{a3}$ | 8.39±0.04$^{a3}$ | 8.13±0.09$^{a3}$ | 8.06±0.06$^{a3}$ | 7.95±0.08$^{a3}$ | 7.97±0.04$^{a3}$ | 7.97±0.36 |
| **ทดลอง 20** | 7.30±0.00$^{a3}$ | 6.99±0.07$^{b3}$ | 6.98±0.05$^{b3}$ | 6.98±0.18$^{b3}$ | 7.07±0.22$^{b3}$ | 7.08±0.21$^{b3}$ | 7.07±0.12 |
| **ควบคุม 30** | 7.30±0.00$^{a4}$ | 8.39±0.03$^{a4}$ | 8.21±0.10$^{a4}$ | 8.13±0.11$^{a4}$ | 8.00±0.15$^{a4}$ | 7.98±0.06$^{a4}$ | 8.00±0.38 |
| **ทดลอง 30** | 7.30±0.00$^{a4}$ | 7.00±0.07$^{b4}$ | 7.07±0.05$^{b4}$ | 7.19±0.04$^{b4}$ | 7.26±0.03$^{b4}$ | 7.33±0.04$^{b4}$ | 7.19±0.13 |
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.88±0.16$^{a}$ | 6.74±0.19$^{a}$ | 6.67±0.20$^{a}$ | 6.84±0.15$^{a}$ | 6.95±0.18$^{a}$ | 6.90±0.22 |
| **ทดลอง 10** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.91±0.06$^{a}$ | 6.78±0.10$^{a}$ | 6.81±0.06$^{ab}$ | 6.87±0.02$^{ab}$ | 6.89±0.02$^{a}$ | 6.93±0.19 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค3** (ต่อ)

| ระดับความเค็ม (ppt) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ทดลอง 20** | 7.30±0.00$^{a}$ | 6.99±0.07$^{a}$ | 6.98±0.05$^{b}$ | 6.98±0.18$^{b}$ | 7.07±0.22$^{bc}$ | 7.08±0.21$^{a}$ | 7.07±0.12 |
| **ทดลอง 30** | 7.30±0.00$^{a}$ | 7.00±0.07$^{a}$ | 7.07±0.05$^{b}$ | 7.19±0.04$^{c}$ | 7.26±0.03$^{c}$ | 7.33±0.04$^{b}$ | 7.19±0.13 |
| **ค่าแอมโมเนียรวม (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0** | 26.00±0.00$^{a1}$ | 20.91±1.09$^{a1}$ | 23.78±2.43$^{a1}$ | 24.90±2.95$^{a1}$ | 24.11±5.15$^{a1}$ | 23.75±2.37$^{a1}$ | 23.91±1.70 |
| **ทดลอง 0** | 26.00±0.00$^{a1}$ | 12.45±0.35$^{b1}$ | 11.36±0.65$^{b1}$ | 18.59±0.91$^{b1}$ | 22.19±0.64$^{a1}$ | 25.75±0.63$^{a1}$ | 19.39±6.41 |
| **ควบคุม 10** | 26.00±0.00$^{a2}$ | 25.33±3.62$^{a2}$ | 26.52±3.57$^{a2}$ | 25.70±3.52$^{a2}$ | 24.14±2.01$^{a2}$ | 24.96±2.78$^{a2}$ | 25.44±0.83 |
| **ทดลอง 10** | 26.00±0.00$^{a2}$ | 16.64±1.31$^{b2}$ | 16.40±0.71$^{b2}$ | 22.83±0.81$^{a2}$ | 27.68±0.76$^{a2}$ | 28.22±0.46$^{b2}$ | 22.96±5.33 |
| **ควบคุม 20** | 26.00±0.00$^{a3}$ | 24.29±3.59$^{a3}$ | 25.92±3.41$^{a3}$ | 25.33±1.81$^{a3}$ | 24.74±2.28$^{a3}$ | 26.15±0.72$^{a3}$ | 25.41±0.76 |
| **ทดลอง 20** | 26.00±0.00$^{a3}$ | 19.63±0.61$^{b3}$ | 18.69±1.16$^{b3}$ | 25.93±1.20$^{a3}$ | 29.14±1.16$^{b3}$ | 31.07±0.33$^{b3}$ | 25.08±4.99 |
| **ควบคุม 30** | 26.00±0.00$^{a4}$ | 27.27±1.11$^{a4}$ | 26.69±1.45$^{a4}$ | 24.81±0.69$^{a4}$ | 24.79±0.48$^{a4}$ | 26.50±0.29$^{a4}$ | 26.01±1.02 |
| **ทดลอง 30** | 26.00±0.00$^{a4}$ | 21.27±1.20$^{b4}$ | 25.54±0.92$^{a4}$ | 30.59±1.14$^{b4}$ | 32.42±0.95$^{b4}$ | 35.92±1.75$^{b4}$ | 28.62±5.33 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค3** (ต่อ)

| ระดับความเค็ม (ppt) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ค่าแอมโมเนียรวม (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0** | 26.00±0.00$^{a}$ | 12.45±0.35$^{a}$ | 11.36±0.65$^{a}$ | 18.59±0.91$^{a}$ | 22.19±0.64$^{a}$ | 25.75±0.63$^{a}$ | 19.39±6.41 |
| **ทดลอง 10** | 26.00±0.00$^{a}$ | 16.64±1.31$^{b}$ | 16.40±0.71$^{b}$ | 22.83±0.81$^{b}$ | 27.68±0.76$^{bc}$ | 28.22±0.46$^{a}$ | 22.96±5.33 |
| **ทดลอง 20** | 26.00±0.00$^{a}$ | 19.63±0.61$^{bc}$ | 18.69±1.16$^{b}$ | 25.93±1.20$^{b}$ | 29.14±1.16$^{cd}$ | 31.07±0.33$^{b}$ | 25.08±4.99 |
| **ทดลอง 30** | 26.00±0.00$^{a}$ | 21.27±1.20$^{c}$ | 25.54±0.92$^{c}$ | 30.59±1.14$^{c}$ | 32.42±0.95$^{d}$ | 35.92±1.75$^{c}$ | 28.62±5.33 |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0** | 0.00±0.00$^{a1}$ | 0.00±0.00$^{a1}$ | 0.21±0.21$^{a1}$ | 0.82±0.29$^{a1}$ | 1.35±0.43$^{a1}$ | 1.82±0.64$^{a1}$ | 0.70±0.76 |
| **ทดลอง 0** | 0.00±0.00$^{a1}$ | 7.21±0.30$^{b1}$ | 10.94±1.01$^{b1}$ | 11.79±1.11$^{b1}$ | 8.80±1.75$^{b1}$ | 5.44±0.58$^{b1}$ | 7.36±4.30 |
| **ควบคุม 10** | 0.00±0.00$^{a2}$ | 0.00±0.00$^{a2}$ | 0.51±0.37$^{a2}$ | 1.26±0.58$^{a2}$ | 1.75±0.93$^{a2}$ | 2.22±1.14$^{a2}$ | 0.96±0.93 |
| **ทดลอง 10** | 0.00±0.00$^{a2}$ | 6.88±0.66$^{b2}$ | 8.56±0.51$^{b2}$ | 8.23±1.64$^{b2}$ | 5.75±1.48$^{b2}$ | 3.92±1.37$^{a2}$ | 5.56±3.21 |
| **ควบคุม 20** | 0.00±0.00$^{a3}$ | 0.00±0.00$^{a3}$ | 0.91±0.45$^{a3}$ | 1.66±0.34$^{a3}$ | 2.17±0.88$^{a3}$ | 2.49±1.15$^{a3}$ | 1.20±1.07 |
| **ทดลอง 20** | 0.00±0.00$^{a3}$ | 2.56±1.39$^{b3}$ | 9.95±3.98$^{b3}$ | 9.88±2.66$^{b3}$ | 8.73±2.34$^{b3}$ | 8.00±3.24$^{b3}$ | 6.52±4.20 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค3** (ต่อ)

| ระดับความเค็ม (ppt) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 30** | 0.00±0.00$^{a4}$ | 0.00±0.00$^{a4}$ | 1.02±0.40$^{a4}$ | 1.89±0.84$^{a4}$ | 2.52±0.71$^{a4}$ | 2.81±1.05$^{a4}$ | 1.37±1.23 |
| **ทดลอง 30** | 0.00±0.00$^{a4}$ | 3.11±3.14$^{b4}$ | 11.28±5.17$^{b4}$ | 13.59±4.13$^{b4}$ | 14.66±2.22$^{b4}$ | 16.48±1.76$^{b4}$ | 9.85±6.72 |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0** | 0.00±0.00$^{a}$ | 7.21±0.30$^{a}$ | 10.94±1.01$^{a}$ | 11.79±1.11$^{ab}$ | 8.80±1.75$^{a}$ | 5.44±0.58$^{ab}$ | 7.36±4.30 |
| **ทดลอง 10** | 0.00±0.00$^{a}$ | 6.88±0.66$^{a}$ | 8.56±0.51$^{a}$ | 8.23±1.64$^{c}$ | 5.75±1.48$^{b}$ | 3.92±1.37$^{a}$ | 5.56±3.21 |
| **ทดลอง 20** | 0.00±0.00$^{a}$ | 2.56±1.39$^{b}$ | 9.95±3.98$^{a}$ | 9.88±2.66$^{bc}$ | 8.73±2.34$^{a}$ | 8.00±3.24$^{b}$ | 6.52±4.20 |
| **ทดลอง 30** | 0.00±0.00$^{a}$ | 3.11±3.14$^{b}$ | 11.28±5.17$^{a}$ | 13.59±4.13$^{a}$ | 14.66±2.22$^{c}$ | 16.48±1.76$^{c}$ | 9.85±6.72 |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ควบคุม 0** | 50.00±0.00$^{a1}$ | 51.79±0.36$^{a1}$ | 50.68±0.53$^{a1}$ | 52.48±1.04$^{a1}$ | 52.38±0.94$^{a1}$ | 51.65±0.62$^{a1}$ | 51.50±0.98 |
| **ทดลอง 0** | 50.00±0.00$^{a1}$ | 29.21±2.80$^{b1}$ | 13.56±4.47$^{b1}$ | 4.58±3.97$^{b1}$ | 0.00±0.00$^{b1}$ | 0.00±0.00$^{b1}$ | 16.22±19.89 |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค3** (ต่อ)

| ระดับความเค็ม (ppt) | ระยะเวลา | | | | | | ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | |
| **ควบคุม 10** | 50.00±0.00$^{a2}$ | 51.66±0.48$^{b2}$ | 50.84±0.82$^{b2}$ | 51.53±0.97$^{a2}$ | 51.38±0.98$^{a2}$ | 51.59±0.46$^{a2}$ | 51.17±0.64 |
| **ทดลอง 10** | 50.00±0.00$^{a2}$ | 37.07±3.56$^{b2}$ | 23.73±6.04$^{b2}$ | 13.71±3.34$^{b2}$ | 8.45±3.74$^{b2}$ | 4.81±2.01$^{b2}$ | 22.96±17.64 |
| **ควบคุม 20** | 50.00±0.00$^{a3}$ | 51.90±0.48$^{a3}$ | 51.28±0.61$^{a3}$ | 50.58±0.52$^{a3}$ | 50.99±0.39$^{a3}$ | 50.77±0.98$^{a3}$ | 50.92±0.65 |
| **ทดลอง 20** | 50.00±0.00$^{a3}$ | 46.06±3.97$^{b3}$ | 33.44±2.18$^{b3}$ | 25.22±1.13$^{b3}$ | 17.70±0.83$^{b3}$ | 14.18±2.15$^{b3}$ | 31.10±14.74 |
| **ควบคุม 30** | 50.00±0.00$^{a4}$ | 51.03±0.33$^{a4}$ | 50.53±0.54$^{a4}$ | 50.98±0.83$^{a4}$ | 51.22±0.36$^{a4}$ | 50.90±0.31$^{a4}$ | 50.78±0.44 |
| **ทดลอง 30** | 50.00±0.00$^{a4}$ | 48.12±2.50$^{a4}$ | 39.87±3.08$^{b4}$ | 34.84±3.02$^{b4}$ | 34.23±3.57$^{b4}$ | 32.61±2.67$^{b4}$ | 39.94±7.49 |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง)** | | | | | | | |
| **ทดลอง 0** | 50.00±0.00$^{a}$ | 29.21±2.80$^{a}$ | 13.56±4.47$^{a}$ | 4.58±3.97$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 16.22±19.89 |
| **ทดลอง 10** | 50.00±0.00$^{a}$ | 37.07±3.56$^{b}$ | 23.73±6.04$^{b}$ | 13.71±3.34$^{b}$ | 8.45±3.74$^{b}$ | 4.81±2.01$^{b}$ | 22.96±17.64 |
| **ทดลอง 20** | 50.00±0.00$^{a}$ | 46.06±3.97$^{c}$ | 33.44±2.18$^{c}$ | 25.22±1.13$^{c}$ | 17.70±0.83$^{c}$ | 14.18±2.15$^{c}$ | 31.10±14.74 |
| **ทดลอง 30** | 50.00±0.00$^{a}$ | 48.12±2.50$^{c}$ | 39.87±3.08$^{d}$ | 34.84±3.02$^{d}$ | 34.23±3.57$^{d}$ | 32.61±2.67$^{d}$ | 39.94±7.49 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** ข้อมูลคุณภาพน้ำจากผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรทของแบคทีเรีย *T. denitrificans* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 5.80±0.35[a] | 5.97±0.40[a] | 6.60±0.35[a] | 6.67±0.06[a] | 6.63±0.15[a] | 5.77±0.32[a] | 6.47±0.06[a] | 6.43±0.15[a] | 6.47±0.15[a] | 6.20±0.10[a] |
| **ชุดทดลอง** | 5.93±0.15[a] | 6.03±0.15[a] | 6.67±0.12[a] | 6.63±0.06[a] | 6.47±0.32[a] | 5.90±0.10[a] | 6.47±0.06[a] | 6.60±0.10[a] | 6.57±0.06[a] | 6.20±0.10[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 6.13±0.06[a] | 5.83±0.29[a] | 6.37±0.15[a] | 6.20±0.17[a] | 6.17±0.31[a] | 6.40±0.10[a] | 6.30±0.10[a] | 5.97±0.15[a] | 6.13±0.21[a] | 6.40±0.00[a] |
| **ชุดทดลอง** | 6.13±0.21[a] | 6.03±0.15[a] | 6.27±0.21[a] | 6.20±0.10[a] | 6.23±0.15[a] | 6.37±0.15[a] | 6.30±0.17[a] | 5.87±0.35[a] | 6.10±0.10[a] | 6.40±0.10[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 6.17±0.15[a] | 6.40±0.10[a] | 6.00±0.10[a] | 6.30±0.10[a] | 6.23±0.15[a] | 5.97±0.32[a] | 6.43±0.23[a] | 6.60±0.20[a] | 5.70±0.26[a] | 5.80±0.17[a] |
| **ชุดทดลอง** | 6.03±0.12[a] | 6.37±0.12[a] | 6.07±0.12[a] | 6.27±0.15[a] | 6.27±0.06[a] | 6.00±0.20[a] | 6.53±0.06[a] | 6.73±0.12[a] | 5.83±0.21[a] | 5.97±0.15[a] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 5.53±0.35[a] | 5.60±0.40[a] | 5.70±0.36[a] | 5.60±0.35[a] | 5.27±0.06[a] | 2.90±1.04[a] | 2.47±0.65[a] | 2.17±0.45[a] | 2.10±0.17[a] | 2.17±0.21[a] |
| **ชุดทดลอง** | 5.70±0.35[a] | 5.73±0.32[a] | 2.20±3.20[b] | 0.27±0.12[b] | 0.43±0.23[b] | 0.70±0.35[b] | 0.47±0.25[b] | 0.30±0.17[b] | 0.53±0.25[b] | 0.37±0.15[b] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 1.97±0.29[a] | 1.97±0.25[a] | 2.03±0.25[a] | 2.03±0.06[a] | 2.13±0.23[a] | 2.17±0.15[a] | 1.90±0.36[a] | 1.83±0.15[a] | 2.07±0.25[a] | 2.03±0.35[a] |
| **ชุดทดลอง** | 0.37±0.15[b] | 0.23±0.06[b] | 0.23±0.06[b] | 0.27±0.06[b] | 0.37±0.06[b] | 0.33±0.12[b] | 0.43±0.12[b] | 0.33±0.06[b] | 0.23±0.06[b] | 0.27±0.12[b] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 1.80±0.20[a] | 2.00±0.20[a] | 1.93±0.32[a] | 2.10±0.26[a] | 2.20±0.17[a] | 2.00±0.17[a] | 2.27±0.15[a] | 2.13±0.40[a] | 2.07±0.06[a] | 2.30±0.26[a] |
| **ชุดทดลอง** | 0.37±0.06[b] | 0.33±0.06[b] | 0.33±0.12[b] | 0.47±0.12[b] | 0.33±0.06[b] | 0.33±0.06[b] | 0.43±0.06[b] | 0.30±0.17[b] | 0.43±0.25[b] | 0.40±0.10[b] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 8.04±0.05[a] | 8.02±0.02[a] | 7.99±0.11[a] | 7.92±0.11[a] | 7.90±0.06[a] | 7.72±0.07[a] | 7.82±0.03[a] | 7.71±0.06[a] | 7.69±0.11[a] | 7.63±0.05[a] |
| **ชุดทดลอง** | 8.04±0.05[a] | 8.06±0.05[a] | 7.93±0.05[a] | 7.76±0.15[a] | 7.85±0.09[a] | 7.65±0.07[a] | 7.67±0.12[a] | 7.63±0.27[a] | 7.54±0.27[a] | 7.55±0.03[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 7.58±0.10[a] | 7.58±0.11[a] | 7.43±0.02[a] | 7.41±0.11[a] | 7.51±0.08[a] | 7.46±0.12[a] | 7.48±0.14[a] | 7.47±0.07[a] | 7.51±0.18[a] | 7.36±0.32[a] |
| **ชุดทดลอง** | 7.68±0.22[a] | 7.36±0.39[a] | 7.47±0.11[a] | 7.63±0.13[a] | 7.49±0.12[a] | 7.53±0.18[a] | 7.44±0.20[a] | 7.39±0.04[a] | 7.36±0.07[a] | 7.38±0.16[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 7.38±0.14[a] | 7.38±0.01[a] | 7.31±0.10[a] | 7.21±0.35[a] | 7.35±0.06[a] | 7.40±0.41[a] | 7.36±0.35[a] | 7.42±0.29[a] | 7.09±0.28[a] | 7.04±0.31[a] |
| **ชุดทดลอง** | 7.34±0.13[a] | 7.28±0.20[a] | 7.20±0.05[a] | 7.41±0.11[a] | 7.27±0.34[a] | 7.27±0.35[a] | 7.16±0.22[a] | 7.29±0.15[a] | 7.20±0.14[a] | 7.03±0.41[a] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากคอลัมน์บำบัดไนเตรท** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 8.09±0.05[a] | 8.10±0.06[a] | 8.07±0.01[a] | 7.99±0.03[a] | 7.79±0.12[a] | 7.62±0.16[a] | 7.46±0.09[a] | 7.48±0.09[a] | 7.38±0.22[a] | 7.44±0.10[a] |
| **ชุดทดลอง** | 8.14±0.03[a] | 8.16±0.04[a] | 7.53±0.52[a] | 7.13±0.20[b] | 7.14±0.12[b] | 7.08±0.03[b] | 6.89±0.11[b] | 6.90±0.16[b] | 6.88±0.18[b] | 7.05±0.06[b] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 7.32±0.23[a] | 7.23±0.13[a] | 7.16±0.15[a] | 7.25±0.08[a] | 7.28±0.06[a] | 7.28±0.06[a] | 7.22±0.12[a] | 7.24±0.23[a] | 7.10±0.12[a] | 7.17±0.12[a] |
| **ชุดทดลอง** | 7.03±0.18[a] | 6.78±0.38[b] | 7.03±0.14[a] | 7.12±0.05[a] | 7.09±0.09[a] | 7.09±0.02[a] | 7.03±0.08[a] | 7.05±0.07[a] | 7.02±0.04[a] | 6.97±0.09[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 7.25±0.12[a] | 7.15±0.15[a] | 7.07±0.16[a] | 7.14±0.17[a] | 7.06±0.05[a] | 6.98±0.04[a] | 7.05±0.14[a] | 7.18±0.10[a] | 7.00±0.05[a] | 7.04±0.14[a] |
| **ชุดทดลอง** | 7.01±0.09[a] | 6.95±0.06[a] | 6.83±0.19[a] | 6.91±0.17[a] | 6.98±0.08[a] | 7.00±0.02[a] | 6.56±0.13[a] | 6.84±0.34[a] | 6.73±0.41[a] | 6.84±0.36[a] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าอุณหภูมิภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 30.27±1.42[a] | 30.23±1.46[a] | 29.60±1.47[a] | 29.47±0.15[a] | 28.23±1.12[a] | 29.93±1.29[a] | 30.00±1.49[a] | 30.57±1.00[a] | 30.67±0.91[a] | 30.23±0.25[a] |
| **ชุดทดลอง** | 29.60±0.20[a] | 29.60±0.20[a] | 28.70±0.26[a] | 29.37±0.06[a] | 28.73±0.21[a] | 29.33±0.15[a] | 29.40±0.10[a] | 29.60±0.10[a] | 29.67±0.06[a] | 30.20±0.20[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 30.67±0.75[a] | 30.90±0.98[a] | 30.33±0.12[a] | 30.60±0.79[a] | 30.57±0.49[a] | 30.03±0.25[a] | 30.37±0.31[a] | 30.83±0.74[a] | 30.17±0.35[a] | 30.20±0.26[a] |
| **ชุดทดลอง** | 30.47±0.57[a] | 30.00±0.20[a] | 30.17±0.29[a] | 30.50±0.50[a] | 30.27±0.15[a] | 30.20±0.20[a] | 30.30±0.62[a] | 30.23±0.21[a] | 29.97±0.06[a] | 29.73±0.64[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 30.53±0.68[a] | 30.53±0.67[a] | 31.03±0.91[a] | 31.37±0.45[a] | 30.97±0.25[a] | 30.77±0.65[a] | 31.20±0.89[a] | 30.70±0.82[a] | 30.97±0.87[a] | 31.17±0.87[a] |
| **ชุดทดลอง** | 30.40±0.61[a] | 30.03±0.25[a] | 29.90±0.20[a] | 29.77±0.21[a] | 30.67±0.21[a] | 30.60±0.46[a] | 29.97±0.23[a] | 29.67±0.06[a] | 29.97±0.06[a] | 30.13±0.06[a] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าอุณหภูมิจากคอลัมน์บำบัดไนเตรท** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| **ชุดควบคุม** | 30.23±1.37[a] | 30.20±1.39[a] | 29.47±1.59[a] | 29.40±0.17[a] | 29.20±1.06[a] | 29.87±1.17[a] | 29.97±1.44[a] | 30.57±0.96[a] | 30.63±0.90[a] | 30.27±0.21[a] |
| **ชุดทดลอง** | 29.60±0.20[a] | 29.60±0.20[a] | 28.70±0.26[a] | 29.30±0.10[b] | 28.70±0.26[b] | 29.37±0.12[b] | 29.40±0.10[b] | 29.57±0.21[b] | 29.67±0.06[b] | 30.30±0.10[b] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** | **19** | **20** |
| **ชุดควบคุม** | 30.73±0.75[a] | 30.83±0.93[a] | 30.37±0.15[a] | 30.60±0.79[a] | 30.57±0.49[a] | 30.03±0.25[a] | 30.40±0.26[a] | 30.90±0.70[a] | 30.23±0.31[a] | 30.27±0.21[a] |
| **ชุดทดลอง** | 30.57±0.60[a] | 30.03±0.21[b] | 30.33±0.32[a] | 30.63±0.60[a] | 30.27±0.15[a] | 30.20±0.20[a] | 30.30±0.62[a] | 30.30±0.26[a] | 30.03±0.06[a] | 29.87±0.67[a] |
| **ระยะวลา (วัน)** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 30.57±0.74[a] | 30.60±0.61[a] | 30.97±0.85[a] | 30.37±0.45[a] | 31.00±0.26[a] | 30.87±0.65[a] | 31.20±0.89[a] | 30.67±0.81[a] | 31.07±0.87[a] | 31.17±0.87[a] |
| **ชุดทดลอง** | 30.47±0.64[a] | 30.07±0.25[a] | 29.97±0.25[a] | 29.87±0.25[a] | 30.73±0.23[a] | 30.63±0.47[a] | 30.10±0.26[a] | 29.73±0.06[a] | 30.03±0.06[a] | 30.13±0.06[a] |



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางผนวกที่ ค4** (ต่อ)

| ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าแอมโมเนียรวมภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **3** | **6** | **9** | **12** | **15** | **18** | **21** | **24** | **27** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 0.40±0.35[a] | 1.04±0.03[a] | 7.92±0.23[a] | 10.35±0.32[a] | 12.43±0.32[a] | 13.86±0.88[a] | 16.26±0.28[a] | 17.32±0.67[a] | 17.82±0.37[a] | 18.15±0.39[a] |
| **ชุดทดลอง** | 0.08±0.12[b] | 0.02±0.00[b] | 0.20±0.02[b] | 0.39±0.03[b] | 0.21±0.02[b] | 0.43±0.02[b] | 0.61±0.03[b] | 0.42±0.05[b] | 0.47±0.08[b] | 0.85±0.08[b] |
| **ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **3** | **6** | **9** | **12** | **15** | **18** | **21** | **24** | **27** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 0.03±0.00[a] | 0.04±0.01[a] | 0.06±0.00[a] | 0.09±0.01[a] | 0.14±0.01[a] | 0.21±0.01[a] | 0.27±0.02[a] | 0.37±0.01[a] | 0.38±0.02[a] | 0.38±0.02[a] |
| **ชุดทดลอง** | 0.34±0.03[b] | 0.26±0.02[b] | 0.21±0.04[b] | 0.13±0.01[b] | 0.08±0.01[b] | 0.03±0.00[b] | 0.04±0.01[b] | 0.03±0.00[b] | 0.03±0.01[b] | 0.04±0.00[b] |
| **ค่าไนเตรท-ไนโตรเจนภายในตู้เลี้ยงปลาคาร์พ** | | | | | | | | | | |
| **ระยะวลา (วัน)** | **3** | **6** | **9** | **12** | **15** | **18** | **21** | **24** | **27** | **30** |
| **ชุดควบคุม** | 4.86±0.11[a] | 6.76±0.40[a] | 7.66±0.55[a] | 8.97±0.33[a] | 9.87±0.11[a] | 10.56±0.28[a] | 11.82±0.27[a] | 12.36±0.09[a] | 12.40±0.09[a] | 12.40±0.06[a] |
| **ชุดทดลอง** | 4.63±0.10[a] | 3.54±0.43[b] | 2.95±0.55[b] | 1.77±0.28[b] | 1.36±0.39[b] | 0.97±0.26[b] | 0.69±0.18[b] | 0.48±0.20[b] | 0.56±0.14[b] | 0.52±0.22[b] |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ภาคผนวก ง**

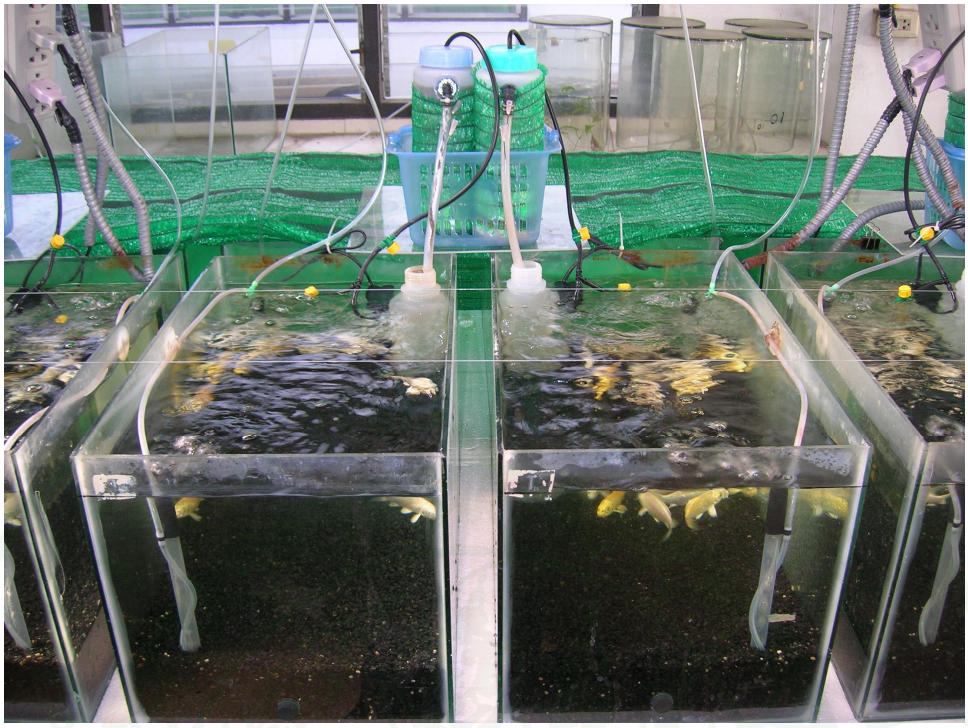
ภาพอุปกรณ์การทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

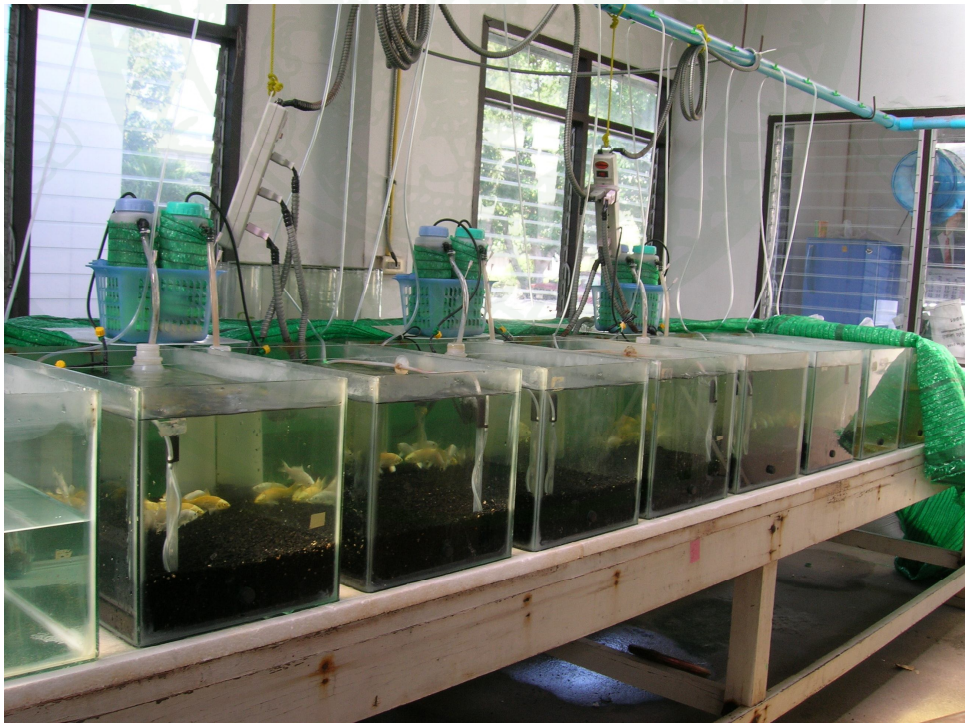
**ภาพผนวกที่ ง1** ลักษณะของกำมะถันก้อนและเม็ดกำมะถัน

**ภาพผนวกที่ ง2** ลักษณะของเปลือกหอยนางรมและเปลือกหอยนางรมบด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



**ภาพผนวกที่ ง3** การจัดวางคอลัมน์บำบัดไนเตรทในการทดลองที่ 4



**ภาพผนวกที่ ง4** การจัดวางตู้ทดลองในการทดลองที่ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ประวัติการศึกษาและการทำงาน

| | |
|---|---|
| ชื่อ | นายตฤณ สุวรรณมานนท์ |
| เกิดวันที่ | 18 เมษายน 2528 |
| สถานที่เกิด | กรุงเทพมหานคร |
| ประวัติการศึกษา | วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน | นิสิตปริญญาโท |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน | ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ | - |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | - |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์